



**Industria y Comercio**  
**SUPERINTENDENCIA**

**SOLICITUD**  
**PATENTE DE INVENCION**

**05-88322**

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO "CONJUGADOS DE POLISACARIDO-PROTEINA PORTADORA ADHESINASUPERFICIAL

DE ESTAFILOCOCO PARA INMUNIZACION CONTRA INFECCIONES NOSOCOMIALES"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL AG14 47/48 A61K39/385

71. SOLICITANTE MYTEL HYDROGENS CORPORATION Y DYNALITEK, INC.

DOMICILIO ALABAMA ESTADO DE NEW JERSEY Y ALABAMA, ESTADO DE GEORGIA,  
ASIAN & AMERICAN OF AMERICA

74. REPRESENTANTE LEGAL MARCIA MARCELA VICENTE  
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 28.11.2005

(SS)



07-10-05

☐ **Patente de Modelo de Utilidad**

## Capítulo II.

Número

**Número 39.690.713 TP 53.215**

**Nacionalidad o Domicilio:** Estados Unidos de América

**Fecha:** **23/09/04**

**"CONJUGADOS DE POLISACARIDO-PROTEINA PORTADORA ADHESINA  
SUPERFICIAL DE ESTAFILOCOCO PARA INMUNIZACION CONTRA  
INFECCIONES NOSOCOMIALES"**

A 61K39/385.

60/452.728

**Fecha:** 01-09-05

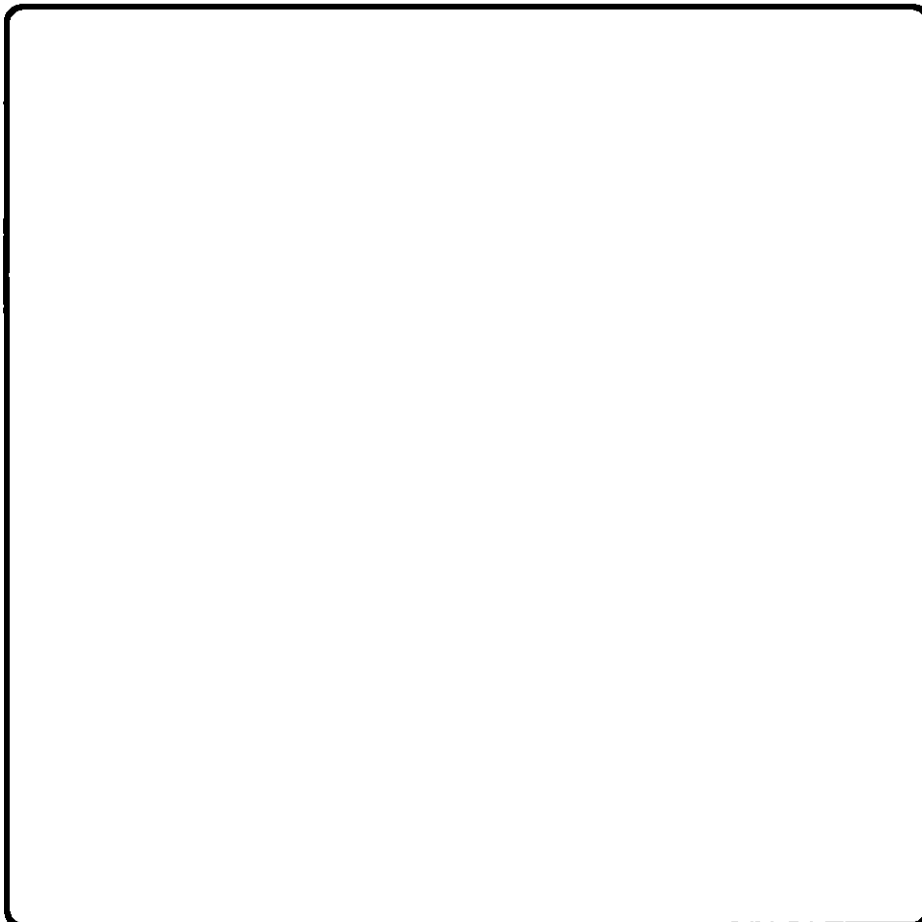
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal de Wyeth.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud Internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional con su traducción, Publicación con su traducción, Solicitud para registro de cambio de un inventor y solicitante con su traducción y Opinión escrita con su traducción.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente.

NOMBRE: ALICIA LLORED A RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.890.713

T.P. 53.215



**ANEXO**

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.

  
ALICIA LLOREDA RICAURTE  
T.P. No. 53.215

4

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-11-09-581  
DE UN DOCUMENTO PRESENTADO EN INGLES

---

**PODER**

Legalización de un Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Certificado Notarial (sociedad), documento también escrito en inglés y en español.

Marilyn L. Mitchell  
Notario Público, Estado de New Jersey  
Mi Comisión Expira el 6 de febrero de 2005

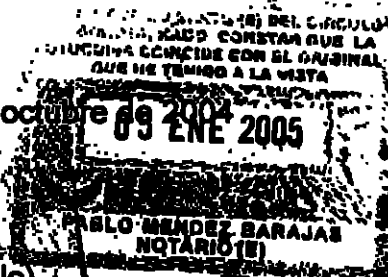
**APOSTILLA**

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por Marilyn L. Mitchell
3. actuando como Notario Público de New Jersey
4. lleva el sello/estampilla de Marilyn L. Mitchell, Notario

**CERTIFICADO**

5. en Trenton, New Jersey
  6. el día 7 de octubre de 2004
  7. por John E McCormac, CPA, Tesorero de New Jersey
  8. No. A210246
  9. Sello/Estampilla
  10. Firma: (ilegible)
- Hay un sello dorado.



Traducido según mi mejor saber y entender, este día 9 de noviembre de 2004, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTOR OFICIAL  
RESOLUCION 2177

*Anita Escobar de Tamayo*  
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 NOV 10 P 10:39

*Los*

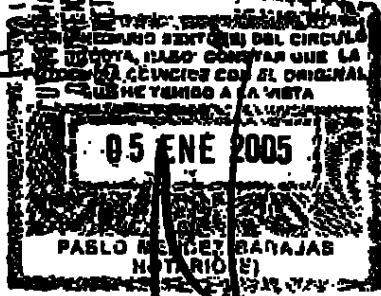
JEFE DE LEGALIZACIONES  
POGTA D.C.

MINISTERIO DE  
RELACIONES EXTERIORES

283160

*Nota Gubern*

UN EJEMPLAR APARECE EN EL  
LIBRO DE REGISTRO DESEMPENA  
DE LAS ACCIONES INDICADAS



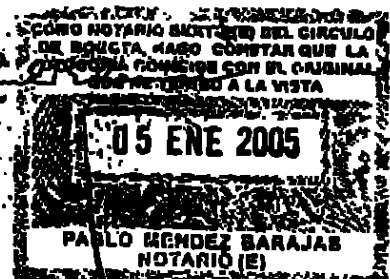
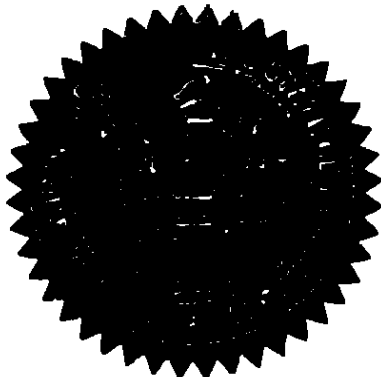
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:  
MARILYN L MITCHELL
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:  
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:  
MARILYN L MITCHELL, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 7TH DAY OF OCTOBER 2004
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A210246
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Los abajo firmados, WYETH HOLDINGS CORPORATION, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes del Estado de Maine, Estados Unidos de América.

con domicilio en Five Giralda Farms, Madison, Estado de New Jersey 07840, Estados Unidos de América

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistirse, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, WYETH HOLDINGS CORPORATION, a corporation organized and existing under the laws of State of Maine, United States of America.

domiciled at Five Giralda Farms, Madison, State of New Jersey 07840, United States of America

hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interest; and in case of opposition, where the power is conferred over to the courts, we authorize them to act on our behalf, as complainant, as well as defendants, before the competent judges, with full powers, to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal, and in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 6th day of October 2004  
Wyeth Holdings Corporation

  
William H. Calnan  
Assistant Secretary

**CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)**

Estados Unidos de América  
Estado de New Jersey (ss  
Condado de Morris

Hoy 6 de Octubre de 2004, compareció William H. Calnan, a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es

de WYETH HOLDINGS CORPORATION la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes del Estado de Maine, Estados Unidos de América, domiciliada en la ciudad de Madison, Condado de Morris, Estado de New Jersey, Estados Unidos de América, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes del Estado de Maine, Estados Unidos de América; que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder, que el sello estampado por él al pie de tal poder en nombre de la representación de la expresada Compañía, y el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de Incorporación firmados en la Ciudad de Augusta, Estado de Maine, con fecha 23 de Julio de 1907, y certifica que de conformidad con la legislación de dicho Estado la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

**NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)**

United States of America  
State of New Jersey (ss  
County of Morris

On this 6th day of October, 2004, personally came William H. Calnan, to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the Assistant Secretary of WYETH HOLDINGS CORPORATION the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of State of Maine, United States of America, domiciled at the City of Madison, County of Morris, State of New Jersey, United States of America, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of State of Maine, United States of America; that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of incorporation of said Corporation executed at the City of Augusta, State of Maine, under date of July 23, 1907 and hereby certifies that under the laws of said State the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.

*Marilyn L. Mitchell*

MARILYN L. MITCHELL  
NOTARY PUBLIC, STATE OF NEW JERSEY  
My Commission Expires February 5, 2005

Folios 8 y 9 forgotten a  
Extracto de publicación folio 7

## TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

## PCT

## REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

(Artículo 18 y Reglas 43 y 44 del PCT)

|                                                                              |                                                                                                                                                                     |                                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Referencia al expediente del solicitante o del mandatario<br><b>AM101133</b> | PARA ACCIÓN ADICIONAL ver Notificación de la Transmisión del Reporte de Búsqueda Internacional (Forma PCT/ISA/220) así como, en donde aplique el inciso 5 posterior |                                                                          |
| No. de solicitud internacional<br><b>PCT/US2004/00661</b>                    | Fecha de presentación internacional (día/mes/año)<br><b>04/03/2004</b>                                                                                              | (Fecha de Prioridad) (La más cercana) (día/mes/año)<br><b>07/03/2003</b> |
| Solicitante<br><b>WYETH HOLDINGS CORPORATION</b>                             |                                                                                                                                                                     |                                                                          |

Este reporte de búsqueda internacional ha sido preparado por esta Autoridad de la Búsqueda Internacional y se transmite al solicitante de conformidad con el Artículo 18. Se transmite una copia a la Oficina Internacional.

Este reporte de búsqueda internacional consiste de un total de 14 hojas

☒ También está acompañado de una copia de cada documento de la técnica anterior citado en este reporte.

## 1. Base del Reporte

a. Con respecto al idioma, la búsqueda internacional fue llevada a cabo con base en la solicitud internacional en el idioma en el cual ésta fue presentada, a no ser que se indique bajo este inciso.

☐ la búsqueda internacional fue llevada a cabo con base en una traducción de la solicitud internacional proporcionada a esta Autoridad (Regla 23.1 (b)).

b. Con respecto a cualquier secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos descritos en la solicitud internacional, la búsqueda fue llevada a cabo con base en el listado de secuencias:

2. ☒ Ciertas reivindicaciones fueron no buscables (Ver Casilla I).

3. ☒ Carencia de unidad de invención (ver Casilla II).

## 4. Con respecto al título,

☒ el texto se aprueba como lo envió el solicitante

☐ el texto ha sido establecido por esta autoridad para leerse como sigue:

## 5. Con respecto al resumen

☒ el texto se aprueba como lo presentó el solicitante.

☐ esta Autoridad ha establecido el texto, de acuerdo con la Regla 38.2(b), tal como aparece en el Cuadro III. El solicitante puede, dentro de un mes a partir de la fecha de envío por correo de este reporte de búsqueda internacional, proporcionar comentarios a esta autoridad.

## 6. Con respecto a los dibujos:

a. La figura de los dibujos que se va a publicar con el resumen es: Figura No. 8

☐ como lo sugirió el solicitante.

☒ porque al solicitante le faltó sugerir una Figura.

☐ porque esta figura caracteriza mejor la invención.

b. ☐ Ninguna de las Figuras ha sido publicada con el extracto

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. de Solicitud Internacional  
PCTUS2004/006661

8

## A. CLASIFICACIÓN DEL ASUNTO RELACIONADO

CIP 7 A61K47/48 C07K16/12 A61K39/385

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o con la clasificación nacional como la CIP.

## B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación misma buscada (sistema de clasificación seguido por los símbolos de clasificación)

CIP 7 A61K C07K

Documentación buscada diferente de la documentación misma, al grado que estos documentos se incluyen en los campos buscados.

Base de datos, electrónica, consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos, donde se puede practicar, símbolos de búsqueda usados).

EPO-Internal, EMBASE, CANCERLIT, DISSERTATION ABS, BIOSIS, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES

| Categoría* | Cita del documento, con indicación, donde es apropiado, de las partes pertinentes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Pertinente para la reivindicación No. |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| X          | FATTOM A ET AL: "Laboratory and clinical Evaluation of conjugate vaccines composed Of Staphylococcus aureus type 5 and type 8 Capsular polysaccharides bound to Pseudomonas aeruginosa recombinant Exoprotein A"<br>INFECTION ADN IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, Vol. 61, no. 3, marzo 1993 (1993-03)<br>Páginas 1023-1032, XP001109265<br>ISSN: 0019-9567<br>Extracto<br>Página 1024 – página 1025<br><br>—<br>-/- | 1-31                                  |

☒ Documentos adicionales se listan en la continuación del cuadro C.

☒ Los miembros de la familia de patentes se listan en el anexo

\* Categoría especial de los documentos citados:

|     |                                                                                                                                                                                           |     |                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| "A" | documento que define el estado general de la técnica, que no se considera que es de pertinencia particular                                                                                | "T" | documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o la fecha de prioridad, y que no provoca conflicto con la solicitud, pero se cita para entender el principio o teoría que trata la invención                                 |
| "B" | Documento anterior, pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional                                                                                                 | "X" | documento de pertinencia particular; la invención reivindicada no se puede considerar nueva o no se puede considerar que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo                                                                         |
| "L" | documento que puede crear dudas de la reivindicación(en) de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra situación u otra razón especial (como se especifican) | "Y" | documento de pertinencia particular; la invención reivindicada no se puede considerar que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más de estos documentos, estas combinaciones son obvias para una persona experta en la técnica |
| "O" | documento que se refiere a una descripción oral, uso, exhibición u otro medio                                                                                                             | "&" | Documento miembro de la familia de patentes                                                                                                                                                                                                                   |
| "P" | documento publicado antes de la fecha de presentación internacional, pero después de la fecha de prioridad reivindicada                                                                   |     |                                                                                                                                                                                                                                                               |

Fecha de la actual terminación de la búsqueda internacional

30 Agosto 2004

Fecha de envío del reporte de búsqueda internacional

09/09/2004

Nombre y domicilio postal de la ISA

Oficina Europea de Patentes, PB 5818 Patentlaan 2  
NL – 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040 Tx 31 651 epo nl  
Fax. (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado

Dullaart, A

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. Solicitud Internacional  
PCT/US2004/006661

9

| DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES (continuación) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                       |
|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Categoría*                                              | Cita del documento, con indicación, donde es apropiado, de los pasajes pertinentes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Pertinente para la Reivindicación No. |
| X                                                       | <p>FATTOM A I ET AL.: "A Staphylococcus Aureus capsular polysaccharide (CP) Vaccine and CP-specific antibodies Protect mice against bacterial challenge"</p> <p>INFECTION AND IMMUNITY 1996 UNITED STATES, Vol. 64, no. 5, 1996, páginas 1659-1665, XP002293940</p> <p>ISSN: 0019-9567</p> <p>Extracto</p> <p>página 1660, columna izquierda – columna derecha</p> <p>tablas 1-3</p> <p>página 1661, columna derecha, último párrafo – página 1662, columna izquierda</p> | 1-31                                  |
| X                                                       | <p>SCHNEERSON R ET AL: "Evaluation of Monophosphoryl lipid A (MPL) as an Adjuvant: Enhancement of the serum Antibody response in mice to Polysaccharide-protein conjugates by Concurrent injection with MPL"</p> <p>JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE WILLIAMS AND WILINS CO. BALTIMORE, US, Vol. 147, no. 7, 1991, páginas 2136-2140, XP002149961</p> <p>ISSN: 002-1767</p> <p>Extracto</p> <p>Tablas</p> <p>Páginas 2138, párrafo DISCUSIÓN – página 2139</p>                  | 1-31                                  |
| X                                                       | <p>SHINEFIELD H ET AL: "Use of a Staphylococcus aureus conjugate vaccine in Patients receiving hemodialysis"</p> <p>NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 14 FEB 2002 UNITED STATES, vol. 346, no. 7, 14 Febrero 2002 (2002-02-14), páginas 491-496, XP002967410</p> <p>ISSN: 0028-4793</p> <p>Extracto</p> <p>Página 492</p> <p>Página 494, columna izquierda, último párrafo</p> <p>- página 495, columna izquierda</p>                                                       | 1-31                                  |



REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. Solicitud Internacional  
PCT/US2004/006661

11

DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES (continuación)

| Categoría* | Cita del documento, con indicación, donde es apropiado, de los pasajes pertinentes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Pertinente para la Reivindicación No. |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Y          | KONADU E ET AL.: "Preparation, Characterization, and immunological Properties in mice of Escherichia coli 0157 O-specific polysaccharide-protein conjugate vaccines<br>INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, Vol. 62, no. 11, Noviembre 1994 (1994-11), Páginas 5048-5054, XP002912908<br>ISSN: 0019-9567<br>Extracto<br>Página 5049<br>Tablas                                                                                                                                                        | 1-31                                  |
| Y          | DEVI S J N ET AL.: "Antibodies to Poli'(2->8)-'alpha!-N-acetylneuraminic Acid! And Poli'(2->9)-'alpha!-N-acetylneuraminic Acid! Are elicited by immunization of mice With Escherichia coli K92 conjugates: Potential vaccines for groups B and C Meningococci and E. coli K1"<br>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, ANTIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, US, Vol. 88, no. 16, 15 Agosto 1991 (1991-08-15), páginas 7175-7179 XP002044636<br>ISSN: 0027-8424<br>Extracto<br>Página 7176, columna derecha<br>Tablas | 1-31                                  |
| Y          | WO 94/10317 A (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL; GEN HOSPITAL CORP (US))<br>11 mayo 1994 (1994-05-11)<br>ejemplos<br>reivindicaciones                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 1-31                                  |
| Y          | WO 00/12131 A (TRINITY COLLEGE DUBLÍN; TEXAS A & M UNIVERSITY SYST (US); INHIBITEX I) 9 Marzo 2000 (200-03-09)<br>Reivindicaciones; ejemplos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1-31                                  |
| Y          | CA 2 351 018 A (UNIV SHERBROOKE)<br>9 Enero 2003 (2003-01-09)<br>ejemplos<br>reivindicaciones                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 1-31                                  |

**DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES (continuación)**

| Categoría* | Cita del documento, con indicación, donde es apropiado, de las partes pertinentes                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Pertinente para la Reivindicación No. |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Y          | JOSEFSSON E ET AL: "PROTECTION AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS ARTHRITIS BY VACCINATION WITH CLUMPING FACTOR A, A NOVEL VIRULENCE DETERMINANT" IMMUNOLOGY LETTERS, AMSTERDAM, NL, Vol. 73, no. 2/3, Septiembre 2000 (200-09), páginas 153-154<br>XP009029019<br>ISSN: 0165-2478<br>El documento completo<br>& 24TH EUROPEAN IMMUNOLOGY MEETING OF THE EUROPEAN FEDERATION OF IMMUNOLOGICAL SOCIETIES 23 Septiembre 2000 (2000-09-23), POZNAN, POLAN | 1-31                                  |
| Y          | JOSEFSSON E ET AL: "Protection against experimental Staphylococcus aureus arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant" JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, CHICAGO, IL, US, Vol. 184, no. 12, 15 Diciembre 2001 (2001-12-15), páginas 1572-1580, XP009028976<br>ISSN: 0022-1899<br>extracto<br>página 1574                                                                                                         | 1-31                                  |
| Y          | CASOLINI F ET AL: "Antibody response to Fibronectin-binding adhesin FnbpA in Patients with Staphylococcus aureus Infections" INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, Vol. 66, no. 11, Noviembre 1998 (1998-11), Páginas 5433-5442, XP00222372<br>ISSN: 0019-9567<br>Extracto<br>Página 5437, columna derecha, último Párrafo – página 5438, columna izquierda, Línea 10<br>Página 5441, párrafo DISCUSIÓN      | 1-31                                  |
| Y          | MAMO W ET AL: "VACCINATION WITH STAPHYLOCOCCUS AUREUS FIBRINOGEN BINDING PROTEINS (FGBPS) REDUCES COLONISATION OF S. AUREUS IN A MOUSE MASTITIS MODEL" FEMS IMMUNOLOGY AND MEDICAL MICROBIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE B.V., AMSTERDAM, NL, Vol. 10, no. 1, 1 Noviembre 1994 (1994-11-01), páginas 47-54, XP000618735<br>ISSN: 0928-8244<br>Extracto<br>Página 48, columna derecha                                                                     | 1-31                                  |



REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. Solicitud Internacional  
PCT/US2004/006661

14

DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES (continuación)

| Categoría* | Cita del documento, con indicación, donde es apropiado, de los pasajes pertinentes                                             | Pertinente para la Reivindicación No. |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| X,P        | US 2003/068336 A1 (RYALL ROBERT P)<br>10 Abril 2003 (2003-04-10)<br>ejemplos 7,9                                               | 1-31                                  |
| P,Y        | WO 03/061558 A (NASO ROBERT B; FATTOM ALI<br>I (US); NABI (US))<br>31 Julio 2003 (2003-07-31)<br>ejemplos<br>reivindicación 17 | 1-31                                  |

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. Solicitud Internacional  
PCT/US2004/006661

15

## Recuadro II. Observaciones donde ciertas reivindicaciones no fueron localizables (Continuación del punto 2 de la primera hoja).

Este reporte de búsqueda internacional no se ha establecido con respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones

### 1. ☒ Reivindicaciones Nos.:

Debido a que se relacionan con el tema que no requiere que sea buscado por esta Autoridad, específicamente:

Aunque las reivindicaciones 25, 26 y 29 están dirigidas a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados del compuesto/composición

### 2. ☐ Reivindicaciones Nos.:

Debido a que se relacionan con las partes de la solicitud internacional que no cumple con los requerimientos preestablecidos a un grado tal que o se puede llevar a cabo la búsqueda internacional significativa, específicamente:

### 3. ☐ Reivindicaciones Nos.:

Debido que son reivindicaciones dependientes y no asignan con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

## Recuadro III. Observaciones donde la unidad de la invención es deficiente (Continuación del punto 3 de la primera hoja).

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró múltiples invenciones en esta solicitud internacional, como sigue:

Ver hoja adicional

1. ☐ Puesto que todas las cuotas de búsqueda, adicionales requeridas se pagaron oportunamente por el solicitante, este Reporte de Búsqueda cubre todas las reivindicaciones buscables.

2. ☒ Puesto que todas las reivindicaciones buscables podrían ser buscadas sin esfuerzo que justifique una cuota adicional, esta Autoridad no solicitó el pago de cualquier cuota adicional.

3. ☐ Puesto que únicamente algunas cuotas de búsqueda, adicionales, requeridas se pagaron oportunamente por el solicitante, este reporte de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron las cuotas, específicamente las reivindicaciones Nos.:

4. ☐ Ninguna de las cuota de búsqueda, adicionales, requeridas se pagaron oportunamente por el solicitante. En consecuencia, este reporte de búsqueda internacional se restringe a la invención mencionada primero en las reivindicaciones, se cubre por las reivindicaciones Nos.:

Comentario de protesta ☐ Las cuotas de búsqueda, adicionales se acompañan por la protesta del solicitante.

☐ Ninguna protesta acompaña al pago de las cuotas de búsqueda, adicionales

## REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

|                                                  |
|--------------------------------------------------|
| No. Solicitud Internacional<br>PCT/US2004/006661 |
|--------------------------------------------------|

|                                                  |
|--------------------------------------------------|
| INFORMACIÓN ADICIONAL FORMA CONTINUA PCT/ISA/210 |
|--------------------------------------------------|

Continuación de la Casilla II.1

Aunque las reivindicaciones 25,26 y 29 están dirigidas a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados del compuesto/composición

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información de miembros de familia de patente

Solicitud Internacional No.

PCT/US2004/006661

| Documento de Patente citado en el reporte de búsqueda | Fecha de publicación | Miembro(s) de la familia de patentes | Fecha de publicación        |
|-------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| WO 0172337                                            | A                    | 04-10-2001                           | AU 4260201 A 08-10-2001     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2403993 A1 04-10-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1267938 A1 02-01-2003    |
|                                                       |                      |                                      | WO 0172337 A1 04-10-2001    |
|                                                       |                      |                                      | JP 2003528157 T 24-09-2003  |
|                                                       |                      |                                      | US 2003082211 A1 01-05-2003 |
|                                                       |                      |                                      |                             |
| WO 0170685                                            | A                    | 27-09-2001                           | AU 4769701 A 03-10-2001     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2391316 A1 27-09-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1315699 A2 04-06-2003    |
|                                                       |                      |                                      | JP 2004501869 T 22-01-2004  |
|                                                       |                      |                                      | WO 0170685 A2 27-09-2001    |
|                                                       |                      |                                      | US 2002146504 A1 10-10-2002 |
|                                                       |                      |                                      | US 6686461 B1 03-02-2004    |
|                                                       |                      |                                      | US 2004110730 A1 10-06-2004 |
|                                                       |                      |                                      | US 2003013857 A1 16-01-2003 |
| WO 9508348                                            | A                    | 30-03-1995                           | AT 254475 T 15-12-2003      |
|                                                       |                      |                                      | AU 678613 B2 05-06-1997     |
|                                                       |                      |                                      | AU 7839194 A 10-04-1995     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2171942 A1 30-03-1995    |
|                                                       |                      |                                      | DE 69433341 D1 24-12-2003   |
|                                                       |                      |                                      | DE 69433341 T2 15-04-2004   |
|                                                       |                      |                                      | EP 0720485 A1 10-07-1996    |
|                                                       |                      |                                      | ES 2210262 T3 01-07-2004    |
|                                                       |                      |                                      | JP 9502978 T 25-03-1997     |
|                                                       |                      |                                      | NZ 274376 A 24-11-1997      |
|                                                       |                      |                                      | WO 9508348 A1 30-03-1995    |
|                                                       |                      |                                      | US 5651971 A 29-07-1997     |
|                                                       |                      |                                      | US 5693326 A 02-12-1997     |
|                                                       |                      |                                      | US 5849301 A 15-12-1998     |
|                                                       |                      |                                      |                             |
|                                                       |                      |                                      |                             |
| WO 0056359                                            | A                    | 28-09-2000                           | AU 750788 B2 25-07-2002     |
|                                                       |                      |                                      | AU 3291900 A 09-10-2000     |
|                                                       |                      |                                      | AU 750913 B2 01-08-2002     |
|                                                       |                      |                                      | AU 3430700 A 09-10-2000     |
|                                                       |                      |                                      | AU 750762 B2 25-07-2002     |
|                                                       |                      |                                      | AU 3813600 A 09-10-2000     |
|                                                       |                      |                                      | BR 0009154 A 26-12-2001     |
|                                                       |                      |                                      | BR 0009163 A 26-12-2001     |
|                                                       |                      |                                      | BR 0009166 A 26-12-2001     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2365296 A1 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | CA 2366152 A1 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | CA 2366314 A1 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | CN 1351503 T 29-05-2002     |
|                                                       |                      |                                      | CN 1351501 T 29-05-2002     |
|                                                       |                      |                                      | CN 1391481 T 15-01-2003     |
|                                                       |                      |                                      | CZ 20013378 A3 13-03-2002   |
|                                                       |                      |                                      | CZ 20013379 A3 13-03-2002   |
|                                                       |                      |                                      | CZ 20013380 A3 13-03-2002   |
|                                                       |                      |                                      | WO 0056358 A2 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | WO 0056359 A2 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | WO 0056360 A2 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1162998 A2 19-12-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1163000 A2 19-12-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1162999 A2 19-12-2001    |
|                                                       |                      |                                      | HU 0200367 A2 29-05-2002    |
|                                                       |                      |                                      | HU 0200373 A2 29-06-2002    |

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información de miembros de familia de patente

Solicitud Internacional No.

PCT/US2004/006661

| Documento de Patente citado en el reporte de búsqueda | Fecha de publicación | Miembro(s) de la familia de patentes | Fecha de publicación        |
|-------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| WO 0172337                                            | A                    | 04-10-2001                           | AU 4260201 A 08-10-2001     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2403993 A1 04-10-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1267938 A1 02-01-2003    |
|                                                       |                      |                                      | WO 0172337 A1 04-10-2001    |
|                                                       |                      |                                      | JP 2003528157 T 24-09-2003  |
|                                                       |                      |                                      | US 2003082211 A1 01-05-2003 |
| WO 0170685                                            | A                    | 27-09-2001                           | AU 4769701 A 03-10-2001     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2391316 A1 27-09-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1315699 A2 04-06-2003    |
|                                                       |                      |                                      | JP 2004501869 T 22-01-2004  |
|                                                       |                      |                                      | WO 0170685 A2 27-09-2001    |
|                                                       |                      |                                      | US 2002146504 A1 10-10-2002 |
|                                                       |                      |                                      | US 6686451 B1 03-02-2004    |
|                                                       |                      |                                      | US 2004110730 A1 10-06-2004 |
| WO 9508348                                            | A                    | 30-03-1995                           | US 2003013857 A1 16-01-2003 |
|                                                       |                      |                                      | AT 254475 T 15-12-2003      |
|                                                       |                      |                                      | AU 678613 B2 05-06-1997     |
|                                                       |                      |                                      | AU 7839194 A 10-04-1995     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2171942 A1 30-03-1995    |
|                                                       |                      |                                      | DE 69433341 D1 24-12-2003   |
|                                                       |                      |                                      | DE 69433341 T2 15-04-2004   |
|                                                       |                      |                                      | EP 0720485 A1 10-07-1996    |
|                                                       |                      |                                      | ES 2210262 T3 01-07-2004    |
|                                                       |                      |                                      | JP 9502978 T 25-03-1997     |
|                                                       |                      |                                      | NZ 274376 A 24-11-1997      |
|                                                       |                      |                                      | WO 9508348 A1 30-03-1995    |
|                                                       |                      |                                      | US 5651971 A 29-07-1997     |
|                                                       |                      |                                      | US 5693326 A 02-12-1997     |
|                                                       |                      |                                      | US 5849301 A 15-12-1998     |
| WO 0056359                                            | A                    | 28-09-2000                           | AU 750788 B2 25-07-2002     |
|                                                       |                      |                                      | AU 3291900 A 09-10-2000     |
|                                                       |                      |                                      | AU 750913 B2 01-08-2002     |
|                                                       |                      |                                      | AU 3430700 A 09-10-2000     |
|                                                       |                      |                                      | AU 750762 B2 25-07-2002     |
|                                                       |                      |                                      | AU 3813600 A 09-10-2000     |
|                                                       |                      |                                      | BR 0009154 A 26-12-2001     |
|                                                       |                      |                                      | BR 0009163 A 26-12-2001     |
|                                                       |                      |                                      | BR 0009166 A 26-12-2001     |
|                                                       |                      |                                      | CA 2365296 A1 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | CA 2366152 A1 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | CA 2366314 A1 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | CN 1351503 T 29-05-2002     |
|                                                       |                      |                                      | CN 1351501 T 29-05-2002     |
|                                                       |                      |                                      | CN 1391481 T 15-01-2003     |
|                                                       |                      |                                      | CZ 20013378 A3 13-03-2002   |
|                                                       |                      |                                      | CZ 20013379 A3 13-03-2002   |
|                                                       |                      |                                      | CZ 20013380 A3 13-03-2002   |
|                                                       |                      |                                      | WO 0056358 A2 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | WO 0056359 A2 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | WO 0056360 A2 28-09-2000    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1162998 A2 19-12-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1163000 A2 19-12-2001    |
|                                                       |                      |                                      | EP 1162999 A2 19-12-2001    |
|                                                       |                      |                                      | HU 0200367 A2 29-05-2002    |
|                                                       |                      |                                      | HU 0200373 A2 29-06-2002    |

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información de miembros de familia de patente

Solicitud Internacional No.

PCT/US2004/006661

| Documento de Patente citado en el reporte de búsqueda | Fecha de publicación |            | Miembro(s) de la familia de patentes |               | Fecha de publicación |
|-------------------------------------------------------|----------------------|------------|--------------------------------------|---------------|----------------------|
| WO 0056359                                            | A                    |            | HU                                   | 0200664 A2    | 29-06-2002           |
|                                                       |                      |            | JP                                   | 2002539273 T  | 19-11-2002           |
|                                                       |                      |            | JP                                   | 2002540074 T  | 26-11-2002           |
|                                                       |                      |            | JP                                   | 2002540075 T  | 26-11-2002           |
|                                                       |                      |            | NO                                   | 20014322 A    | 14-11-2001           |
|                                                       |                      |            | NO                                   | 20014323 A    | 14-11-2001           |
|                                                       |                      |            | NO                                   | 20014325 A    | 14-11-2001           |
|                                                       |                      |            | NZ                                   | 513840 A      | 27-02-2004           |
|                                                       |                      |            | NZ                                   | 513841 A      | 28-09-2001           |
|                                                       |                      |            | NZ                                   | 513842 A      | 28-05-2004           |
|                                                       |                      |            | PL                                   | 355178 A1     | 05-04-2004           |
|                                                       |                      |            | PL                                   | 355180 A1     | 05-04-2004           |
|                                                       |                      |            | PL                                   | 355264 A1     | 05-04-2004           |
|                                                       |                      |            | TR                                   | 200102735 T2  | 22-04-2002           |
|                                                       |                      |            | TR                                   | 200102736 T2  | 22-04-2002           |
|                                                       |                      |            | TR                                   | 200102739 T2  | 21-12-2001           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 2003147922 A1 | 07-08-2003           |
|                                                       |                      |            | ZA                                   | 200107637 A   | 21-06-2002           |
|                                                       |                      |            | ZA                                   | 200107638 A   | 11-06-2002           |
|                                                       |                      |            | ZA                                   | 200107640 A   | 11-09-2002           |
|                                                       |                      |            | AU                                   | 762857 B2     | 10-07-2003           |
| WO 9903871                                            | A                    | 28-01-1999 | AU                                   | 8407298 A     | 10-02-1999           |
|                                                       |                      |            | EP                                   | 1000076 A1    | 17-05-2000           |
|                                                       |                      |            | WO                                   | 9903871 A1    | 28-01-1999           |
| EP 1034792                                            | A                    | 13-09-2000 | EP                                   | 1034792 A1    | 13-09-2000           |
|                                                       |                      |            | AU                                   | 4113000 A     | 28-09-2000           |
|                                                       |                      |            | CA                                   | 2364442 A1    | 14-09-2000           |
|                                                       |                      |            | WO                                   | 0053221 A1    | 14-09-2000           |
|                                                       |                      |            | EP                                   | 1161259 A1    | 12-12-2001           |
|                                                       |                      |            | HU                                   | 0200405 A2    | 29-06-2002           |
|                                                       |                      |            | JP                                   | 2003527309 T  | 16-09-2003           |
|                                                       |                      |            | NO                                   | 20014326 A    | 02-11-2001           |
|                                                       |                      |            | NZ                                   | 514089 A      | 28-09-2001           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 2002094338 A1 | 18-07-2002           |
| WO 9410317                                            | A                    | 11-05-1994 | AU                                   | 5626998 A     | 07-05-1998           |
|                                                       |                      |            | AU                                   | 689452 B2     | 02-04-1998           |
|                                                       |                      |            | AU                                   | 5665494 A     | 24-05-1994           |
|                                                       |                      |            | CA                                   | 2146926 A1    | 11-05-1994           |
|                                                       |                      |            | EP                                   | 0669985 A1    | 06-09-1995           |
|                                                       |                      |            | FI                                   | 951979 A      | 29-06-1995           |
|                                                       |                      |            | HU                                   | 70981 A2      | 28-11-1995           |
|                                                       |                      |            | JP                                   | 8505282 T     | 11-06-1996           |
|                                                       |                      |            | NO                                   | 951629 A      | 03-07-1995           |
|                                                       |                      |            | NZ                                   | 258684 A      | 24-04-1997           |
|                                                       |                      |            | PL                                   | 308555 A1     | 21-08-1995           |
|                                                       |                      |            | RU                                   | 2209247 C2    | 27-07-2003           |
|                                                       |                      |            | WO                                   | 9410317 A2    | 11-05-1994           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 6342223 B1    | 29-01-2002           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 5648241 A     | 15-07-1997           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 5847081 A     | 08-12-1998           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 5820860 A     | 13-10-1998           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 5858362 A     | 12-01-1999           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 5908629 A     | 01-06-1999           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 5968521 A     | 19-10-1999           |
|                                                       |                      |            | US                                   | 5843444 A     | 01-12-1998           |

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información de miembros de familia de patente

Solicitud Internacional No.  
PCT/US2004/006661

| Documento de Patente citado en el reporte de búsqueda | Fecha de publicación | Miembro(s) de la familia de patentes                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Fecha de publicación                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| WO 9410317                                            | A                    | ZA 9308171 A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 07-03-1995                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| WO 0012131                                            | A 09-03-2000         | AU 771426 B2<br>AU 5588999 A<br>BR 9913340 A<br>CA 2340304 A1<br>CN 1317976 T<br>EP 1109577 A1<br>JP 2002523473 T<br>WO 0012131 A1<br>US 6703025 B1                                                                                                                                                                          | 18-03-2004<br>21-03-2000<br>06-11-2001<br>09-03-2000<br>17-10-2001<br>27-06-2001<br>30-07-2002<br>09-03-2000<br>09-03-2004                                                                                                                                                           |
| CA 2351018                                            | A 09-01-2003         | CA 2351018 A1<br>CA 2392756 A1<br>US 2003087864 A1                                                                                                                                                                                                                                                                           | 09-01-2003<br>09-01-2003<br>08-05-2003                                                                                                                                                                                                                                               |
| WO 0071585                                            | A 30-11-2000         | AU 5867100 A<br>CA 2373221 A1<br>EP 1173485 A1<br>JP 2003503015 T<br>WO 0071585 A1                                                                                                                                                                                                                                           | 12-12-2000<br>30-11-2000<br>23-01-2002<br>28-01-2003<br>30-11-2000                                                                                                                                                                                                                   |
| WO 8606635                                            | A 20-11-1986         | AU 594059 B2<br>AU 5861286 A<br>WO 8606635 A1<br>CN 86103835 A<br>DE 3650082 D1<br>DE 3650082 T2<br>DK 16487 A<br>EP 0222835 A1<br>ES 8900006 A1<br>FI 870140 A<br>HK 29896 A<br>IL 78775 A<br>JP 2761849 B2<br>JP 7213290 A<br>JP 2660511 B2<br>JP 62503031 T<br>NO 870148 A<br>NZ 216162 A<br>US 6103243 A<br>ZA 8603612 A | 01-03-1990<br>04-12-1986<br>20-11-1986<br>08-04-1987<br>03-11-1994<br>04-05-1995<br>16-03-1987<br>27-05-1987<br>01-01-1989<br>14-01-1987<br>23-02-1996<br>21-06-1992<br>04-06-1998<br>15-08-1995<br>08-10-1997<br>03-12-1987<br>13-03-1987<br>26-04-1989<br>15-08-2000<br>26-08-1987 |
| WO 03076470                                           | A 18-09-2003         | WO 03076470 A1<br>US 2004006209 A1                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 18-09-2003<br>08-01-2004                                                                                                                                                                                                                                                             |
| US 2003068336                                         | A1 10-04-2003        | CA 2435681 A1<br>EP 1355673 A2<br>HU 0302999 A2<br>LT 2003071 A<br>NO 20033816 A<br>SI 21352 A<br>WO 02058737 A2                                                                                                                                                                                                             | 01-08-2002<br>29-10-2003<br>29-12-2003<br>25-08-2004<br>11-09-2003<br>30-06-2004<br>01-08-2002                                                                                                                                                                                       |
| WO 03061558                                           | A 31-07-2003         | US 2003113350 A1<br>CA 2460749 A1<br>EP 1427442 A2<br>WO 03061558 A2                                                                                                                                                                                                                                                         | 19-06-2003<br>31-07-2003<br>16-06-2004<br>31-07-2003                                                                                                                                                                                                                                 |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

|                                                    |                                                                                               |                                                         |
|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Applicant's or agent's file reference<br>AM101133  | <b>FOR FURTHER ACTION</b><br>see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below. |                                                         |
| International application No.<br>PCT/US2004/006661 | International filing date (day/month/year)<br>04/03/2004                                      | (Earliest) Priority Date (day/month/year)<br>07/03/2003 |
| Applicant<br><br>WYETH HOLDINGS CORPORATION        |                                                                                               |                                                         |

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 14 Briefs.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box II).

3. ☒ Unity of invention is lacking (see Box III).

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(p), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. 8

☐ as suggested by the applicant.

☒ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
:T/US2004/006661

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 A61K47/48 C07K16/12 A61K39/385

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are cited in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPQ-Internal, EMBASE, CANCERLIT, DISSERTATION ABS, BIOSIS, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Relevant to claim No. |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X          | FATTOM A ET AL: "Laboratory and clinical evaluation of conjugate vaccines composed of Staphylococcus aureus type 5 and type 8 capsular polysaccharides bound to Pseudomonas aeruginosa recombinant exoprotein A"<br>INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, vol. 61, no. 3, March 1993 (1993-03), pages 1023-1032, XP001109265<br>ISSN: 0019-9567<br>abstract<br>page 1024 - page 1025<br>-/- | 1-31                  |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 August 2004

Date of mailing of the international search report

09/09/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. Box 5818 Patenkamp 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 851 apc nl,  
Fax: (+31-70) 340-2018

Authorized officer

Dullaart, A.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
ST/US2004/006661

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Relevant to claim No. |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X          | FATTOM A I ET AL: "A Staphylococcus aureus capsular polysaccharide (CP) vaccine and CP- specific antibodies protect mice against bacterial challenge" INFECTION AND IMMUNITY 1996 UNITED STATES, vol. 64, no. 5, 1996, pages 1659-1665, XP002293940<br>ISSN: 0019-9567<br>abstract<br>page 1660, left-hand column - right-hand column<br>tables 1-3<br>page 1661, right-hand column, last paragraph - page 1662, left-hand column | 1-31                  |
| X          | SCHNEERSON R ET AL: "Evaluation of monophosphoryl lipid A (MPL) as an adjuvant: Enhancement of the serum antibody response in mice to polysaccharide-protein conjugates by concurrent injection with MPL" JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE WILLIAMS AND WILKINS CO. BALTIMORE, US, vol. 147, no. 7, 1991, pages 2136-2140, XP002149961<br>ISSN: 0022-1767<br>abstract<br>tables<br>page 2138, paragraph DISCUSSION - page 2139          | 1-31                  |
| X          | SHINEFIELD H ET AL: "Use of a Staphylococcus aureus conjugate vaccine in patients receiving hemodialysis" NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 14 FEB 2002 UNITED STATES, vol. 346, no. 7, 14 February 2002 (2002-02-14), pages 491-496, XP002967410<br>ISSN: 0028-4793<br>abstract<br>page 492<br>page 494, left-hand column, last paragraph - page 495, left-hand column                                                             | 1-31                  |

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
CT/US2004/006661

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                       |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category *                                           | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Relevant to claim No. |
| X                                                    | WELCH P G ET AL: "Safety and immunogenicity of staphylococcus aureus type 5 capsular polysaccharide-pseudomonas aeruginosa recombinant exoprotein A conjugate vaccine in patients on hemodialysis"<br>JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY, WILLIAMS AND WILKINS, BALTIMORE, MD, US,<br>vol. 7, 1996, pages 247-253, XP002967409<br>ISSN: 1046-6673<br>abstract<br>table 5 | 1-31                  |
| Y                                                    | WO 01/72337 A (GORRINGE ANDREW RICHARD ; HUDSON MICHAEL JOHN (GB); MICROBIOLOGICAL RE) 4 October 2001 (2001-10-04)<br>examples<br>claims                                                                                                                                                                                                                                            | 1-31                  |
| Y                                                    | WO 01/70685 A (SOLULINK INC ; SCHWARTZ DAVID A (US))<br>27 September 2001 (2001-09-27)<br>page 33, line 24 - page 34, line 16<br>example 29                                                                                                                                                                                                                                         | 1-31                  |
| Y                                                    | WO 95/08348 A (JACKSON H M FOUND MILITARY MED) 30 March 1995 (1995-03-30)<br>example 4                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 1-31                  |
| Y                                                    | WO 00/56359 A (DESMONS PIERRE MICHEL ; PRIEELS JEAN PAUL (BE); SMITHKLINE BEECHAN BIO) 28 September 2000 (2000-09-28)<br>example 10<br>claims                                                                                                                                                                                                                                       | 1-31                  |
| Y                                                    | WO 99/03871 A (SCHNEERSON RACHEL ; POZSGAY VINCE (US); US HEALTH (US); ROBBINS JOHN B) 28 January 1999 (1999-01-28)<br>examples<br>claims                                                                                                                                                                                                                                           | 1-31                  |
| Y                                                    | EP 1 034 792 A (PASTEUR MERIEUX SERUMS VACC ; JONSDOTTIR INGILEIF (IS))<br>13 September 2000 (2000-09-13)<br>page 6 - page 7<br>claims                                                                                                                                                                                                                                              | 1-31                  |
| -/--                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                       |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
CT/US2004/006661

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant pages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y          | KONADU E ET AL: "Preparation, characterization, and immunological properties in mice of Escherichia coli 0157 O-specific polysaccharide-protein conjugate vaccines"<br>INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, vol. 62, no. 11, November 1994 (1994-11), pages 5048-5054, XP002912809<br>ISSN: 0019-9567<br>abstract<br>page 5049<br>tables                                                                                                                                                           | 1-31                  |
| Y          | DEVI S J N ET AL: "Antibodies to poly'(2->8)-'alpha'-N-acetylneuraminic acid! and poly'(2->9)-'alpha'-N-acetylneuraminic acid! are elicited by immunization of mice with Escherichia coli K92 conjugates: Potential vaccines for groups B and C meningococci and E. coli K1"<br>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, US, vol. 88, no. 16, 15 August 1991 (1991-08-15), pages 7175-7179, XP002044636<br>ISSN: 0027-8424<br>abstract<br>page 7176, right-hand column<br>tables | 1-31                  |
| Y          | WO 94/10317 A (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL ; GEN HOSPITAL CORP (US))<br>11 May 1994 (1994-05-11)<br>examples<br>claims                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 1-31                  |
| Y          | WO 00/12131 A (TRINITY COLLEGE DUBLIN ; TEXAS A & M UNIVERSITY SYST (US); INHIBITEX I) 9 March 2000 (2000-03-09)<br>claims; examples                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 1-31                  |
| Y          | CA 2 351 018 A (UNIV SHERBROOKE)<br>9 January 2003 (2003-01-09)<br>examples<br>claims                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1-31                  |
|            | -/-                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                       |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
CT/US2004/006661

C/(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Relevant to claim No. |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y          | JOSEFSSON E ET AL: "PROTECTION AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS ARTHRITIS BY VACCINATION WITH CLUMPING FACTOR A, A NOVEL VIRULENCE DETERMINANT"<br>IMMUNOLOGY LETTERS, AMSTERDAM, NL,<br>vol. 73, no. 2/3,<br>September 2000 (2000-09), pages 153-154,<br>XP009029019<br>ISSN: 0165-2478<br>the whole document<br>& 24TH EUROPEAN IMMUNOLOGY MEETING OF THE EUROPEAN FEDERATION OF IMMUNOLOGICAL SOCIETIES, 23 September 2000 (2000-09-23), POZNAN, POLAN | 1-31                  |
| Y          | JOSEFSSON E ET AL: "Protection against experimental Staphylococcus aureus arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant"<br>JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, CHICAGO, IL, US,<br>vol. 184, no. 12,<br>15 December 2001 (2001-12-15), pages 1572-1580, XP009028976<br>ISSN: 0022-1899<br>abstract<br>page 1573                                                                                                          | 1-31                  |
| Y          | CASOLINI F ET AL: "Antibody response to fibronectin-binding adhesin FnbpA in patients with Staphylococcus aureus infections"<br>INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US,<br>vol. 66, no. 11, November 1998 (1998-11), pages 5433-5442, XP002222372<br>ISSN: 0019-9567<br>abstract<br>page 5437, right-hand column, last paragraph - page 5438, left-hand column, line 10<br>page 5441, paragraph DISCUSSION          | 1-31                  |
| Y          | MAMO W ET AL: "VACCINATION WITH STAPHYLOCOCCUS AUREUS FIBRINOGEN BINDING PROTEINS (FGBPS) REDUCES COLONISATION OF S. AUREUS IN A MOUSE MASTITIS MODEL"<br>FEMS IMMUNOLOGY AND MEDICAL MICROBIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE B.V., AMSTERDAM, NL,<br>vol. 10, no. 1,<br>1 November 1994 (1994-11-01), pages 47-54,<br>XP000619735<br>ISSN: 0928-8244<br>abstract<br>page 48, right-hand column                                                                 | 1-31                  |
|            | -/-                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                       |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
CT/US2004/006661

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                       |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category *                                           | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                               | Relevant to claim No. |
| X                                                    | FATTOM A ET AL: "Effect of conjugation methodology, carrier protein, and adjuvants on the immune response to Staphylococcus aureus capsular polysaccharides"<br>VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC.<br>GUILDFORD, GB,<br>vol. 13, no. 14,<br>1 October 1995 (1995-10-01), pages 1288-1293, XP004057429<br>ISSN: 0264-410X<br>abstract<br>page 1290; tables 1,2      | 1-31                  |
| Y                                                    | PARK HEE-MYUNG ET AL: "Immunogenicity of alpha-toxin, capsular polysaccharide (CPS) and recombinant fibronectin-binding protein (r-FnBP) of Staphylococcus aureus in rabbit"<br>JOURNAL OF VETERINARY MEDICAL SCIENCE,<br>vol. 61, no. 9, September 1999 (1999-09), pages 995-1000, XP002293941<br>ISSN: 0916-7250<br>abstract<br>table 1<br>figures<br>page 999 | 1-31                  |
| X                                                    | WO 00/71585 A (MEDAREX INC)<br>30 November 2000 (2000-11-30)<br>examples<br>claims                                                                                                                                                                                                                                                                               | 27-31                 |
| Y                                                    | WO 86/06635 A (BIOTECH AUSTRALIA PTY LTD)<br>20 November 1986 (1986-11-20)<br>page 4<br>claims 12-15                                                                                                                                                                                                                                                             | 1-26                  |
| X                                                    | HAN HONG RYUL ET AL: "Determination of alpha-toxin antibodies against Staphylococcus aureus and phagocytic ability postimmunization in rabbits"<br>BOVINE PRACTITIONER, no. 32 PART 1,<br>January 1998 (1998-01), pages 14-17,<br>XP008034262<br>ISSN: 0524-1685 0524-1685<br>abstract<br>tables<br>page 16, right-hand column                                   | 27-31                 |
| Y,P                                                  | WO 03/076470 A (TEXAS A & M UNIVERSITY SYST ; INHIBITEX INC (US))<br>18 September 2003 (2003-09-18)<br>examples<br>claims                                                                                                                                                                                                                                        | 1-31                  |
|                                                      | -/-                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                       |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/US2004/006661

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                       |                       |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category *                                           | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                    | Relevant to claim No. |
| Y,P                                                  | US 2003/068336 A1 (RYALL ROBERT P)<br>10 April 2003 (2003-04-10)<br>examples 7,9                                      | 1-31                  |
| P,Y                                                  | WO 03/061558 A (NASO ROBERT B ; FATTOM ALI<br>I (US); NABI (US))<br>31 July 2003 (2003-07-31)<br>examples<br>claim 17 | 1-31                  |



29.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2004/006661

## Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 25, 26 and 29 are directed to a method of treatment of the human/animal body, a search has been carried out, based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 8.4(a).

## Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## Continuation of Box II.1

Although claims 25, 26 and 29 are directed to a method of treatment of the human/animal body, a search has been carried out, based on the alleged effects of the compound/composition.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-26

Conjugate according to claims 1-16, an immunogenic composition according to claims 17-24 containing such conjugate, and the method of active immunisation, using this composition according to claims 25-26  
---

2. claims: 27-31

Hyperimmune globulin, its preparation, and its use in passive immunisation, according to these claims.  
---



32

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US2004/006661

| Patent document cited in search report |   | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|----------------------------------------|---|------------------|-------------------------|------------------|
| WO 0172337                             | A | 04-10-2001       | AU 4260201 A            | 08-10-2001       |
|                                        |   |                  | CA 2403993 A1           | 04-10-2001       |
|                                        |   |                  | EP 1267938 A1           | 02-01-2003       |
|                                        |   |                  | WO 0172337 A1           | 04-10-2001       |
|                                        |   |                  | JP 2003528157 T         | 24-09-2003       |
|                                        |   |                  | US 2003082211 A1        | 01-05-2003       |
| WO 0170685                             | A | 27-09-2001       | AU 4769701 A            | 03-10-2001       |
|                                        |   |                  | CA 2391316 A1           | 27-09-2001       |
|                                        |   |                  | EP 1315699 A2           | 04-06-2003       |
|                                        |   |                  | JP 2004501869 T         | 22-01-2004       |
|                                        |   |                  | WO 0170685 A2           | 27-09-2001       |
|                                        |   |                  | US 2002146504 A1        | 10-10-2002       |
|                                        |   |                  | US 6686461 B1           | 03-02-2004       |
|                                        |   |                  | US 2004110730 A1        | 10-06-2004       |
|                                        |   |                  | US 2003013857 A1        | 16-01-2003       |
| WO 9508348                             | A | 30-03-1995       | AT 254475 T             | 15-12-2003       |
|                                        |   |                  | AU 678613 B2            | 05-06-1997       |
|                                        |   |                  | AU 7839194 A            | 10-04-1995       |
|                                        |   |                  | CA 2171942 A1           | 30-03-1995       |
|                                        |   |                  | DE 69433341 D1          | 24-12-2003       |
|                                        |   |                  | DE 69433341 T2          | 15-04-2004       |
|                                        |   |                  | EP 0720495 A1           | 10-07-1996       |
|                                        |   |                  | ES 2210262 T3           | 01-07-2004       |
|                                        |   |                  | JP 9502978 T            | 25-03-1997       |
|                                        |   |                  | NZ 274376 A             | 24-11-1997       |
|                                        |   |                  | WO 9508348 A1           | 30-03-1995       |
|                                        |   |                  | US 5651971 A            | 29-07-1997       |
|                                        |   |                  | US 5693326 A            | 02-12-1997       |
|                                        |   |                  | US 5849301 A            | 15-12-1998       |
| WO 0056359                             | A | 28-09-2000       | AU 750798 B2            | 25-07-2002       |
|                                        |   |                  | AU 3291900 A            | 09-10-2000       |
|                                        |   |                  | AU 750913 B2            | 01-08-2002       |
|                                        |   |                  | AU 3430700 A            | 09-10-2000       |
|                                        |   |                  | AU 750762 B2            | 25-07-2002       |
|                                        |   |                  | AU 3813600 A            | 09-10-2000       |
|                                        |   |                  | BR 0009154 A            | 26-12-2001       |
|                                        |   |                  | BR 0009163 A            | 26-12-2001       |
|                                        |   |                  | BR 0009166 A            | 26-12-2001       |
|                                        |   |                  | CA 2365296 A1           | 28-09-2000       |
|                                        |   |                  | CA 2366152 A1           | 28-09-2000       |
|                                        |   |                  | CA 2366314 A1           | 28-09-2000       |
|                                        |   |                  | CN 1351503 T            | 29-05-2002       |
|                                        |   |                  | CN 1351501 T            | 29-05-2002       |
|                                        |   |                  | CN 1391491 T            | 15-01-2003       |
|                                        |   |                  | CZ 20013378 A3          | 13-03-2002       |
|                                        |   |                  | CZ 20013379 A3          | 13-03-2002       |
|                                        |   |                  | CZ 20013380 A3          | 13-03-2002       |
|                                        |   |                  | WO 0056358 A2           | 28-09-2000       |
|                                        |   |                  | WO 0056359 A2           | 28-09-2000       |
|                                        |   |                  | WO 0056360 A2           | 28-09-2000       |
|                                        |   |                  | EP 1162998 A2           | 19-12-2001       |
|                                        |   |                  | EP 1163000 A2           | 19-12-2001       |
|                                        |   |                  | EP 1162999 A2           | 19-12-2001       |
|                                        |   |                  | HU 0200367 A2           | 29-05-2002       |
|                                        |   |                  | HU 0200373 A2           | 29-06-2002       |

(43) Fecha de Publicación Internacional:  
23 Septiembre 2004 (23.09.2004)

PCT

(51) Clasificación Internacional de Patentes: A61K 47/48, C07K  
16/12, A61K 39/385

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/US2004/006661

(22) Fecha de Presentación Internacional: 4 Marzo 2004 (04.03.2004)

(25) Idioma de Presentación: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Datos de Prioridad:  
60/452,728 7 Marzo 2003 (07.03.2003) US

(71) Solicitante: (para todos los Estados designados excepto US) WYETH  
HOLDINGS CORPORATION [US/US]; Five Giralda Farms,  
Madison, NJ 07940 (US).

(72) Inventores y

(75) Inventores/Solicitantes: (para US únicamente) PAVLIAK, William  
[US/US]; 31 Le Pere Drive, Pittsford, NY 14534 (US).

BAKER, Steven, Morris [US/US]; 64 Sunset Terrace,  
Highland Mills, NY 10930 (US). PILLAI, Subramenia,  
Padmanaba [US/US]; 422 Avalon Gardens Drive, Nanuet,  
NY 10954 (US)

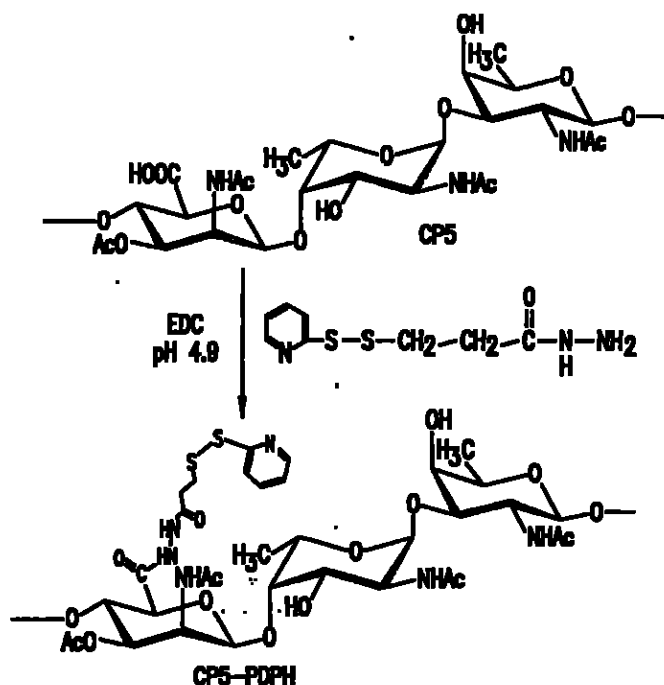
(74) Agente: ROZEK, Carol, E.; Wyeth, Patent Law Department,  
Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(81) Estados Designados (a no ser que se indique de otro modo  
para cada tipo de protección nacional disponible): AE, AG,  
AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI,  
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,  
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,  
MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,  
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a no ser que se indique de otro  
modo, para cada tipo de protección regional disponible):  
Patente ARIPO (BW, GH,

[continua en la página siguiente]

(54) Título: CONJUGADOS DE POLISACARIDO-PROTEINA PORTADORA ADHESINA SUPERFICIAL DE  
ESTAFILOCOCO PARA INMUNIZACION CONTRA INFECCIONES NOSOCOMIALES



(57) Extracto: Se describen los  
conjugados inmunogénicos de  
polisacárido-proteína que tienen un  
antígeno polisacárido (o su fragmento  
oligosacárido que representa uno o más  
epitopos antigénicos) derivado de un  
conjugado nosocomial conjugado a una  
proteína portadora adhesina superficial de  
estafilococo, que se utilizan en  
composiciones inmunogénicas para  
producir respuestas de anticuerpo hacia el  
antígeno polisacárido y hacia la proteína  
portadora adhesina superficial de  
estafilococo. Tales composiciones  
inmunogénicas son utilizadas para  
immunizar contra enfermedades  
provocadas por *Staphylococcus aureus*,  
*Staphylococcus epidermidis* u otros  
patógenos nosocomiales.

GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),  
 Patente Eurasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
 TM), Patente Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
 EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO,  
 SE, SI, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,  
 GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

*Antes de la expiración del tiempo límite para enmendar las  
 reivindicaciones y para ser publicado nuevamente en el caso de la  
 recepción de las enmiendas.*

(88) Fecha de publicación del reporte de búsqueda internacional:  
 28 Octubre 2004

**Publicada**  
*Con reporte de búsqueda internacional.*

*Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, referirse a las  
 "Notas de Guía sobre los Códigos y Abreviaturas" que aparecen al  
 comienzo de cada emisión regular de la Gaceta del PCT.*

(19) World Intellectual Property  
Organization  
International Bureau



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

(43) International Publication Date  
23 September 2004 (23.09.2004)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 2004/080490 A3

(51) International Patent Classification<sup>7</sup>: A61K 47/48,  
C07K 16/12, A61K 39/385

(21) International Application Number:  
PCT/US2004/006661

(22) International Filing Date: 4 March 2004 (04.03.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/452,728 7 March 2003 (07.03.2003) US

(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH  
HOLDINGS CORPORATION [US/US]; Five Girdle  
Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(72) Inventors: and

(75) Inventors/Applicants (for US only): PAVLIAK, William  
[US/US]; 31 Le Pere Drive, Pittsford, NY 14534 (US).

BAKER, Steven, Morris [US/US]; 64 Sunset Terrace,  
Highland Mills, NY 10930 (US). PILLAI, Subramonia,  
Padmanabha [US/US]; 422 Avalon Gardens Drive, Nanuet,  
NY 10954 (US).

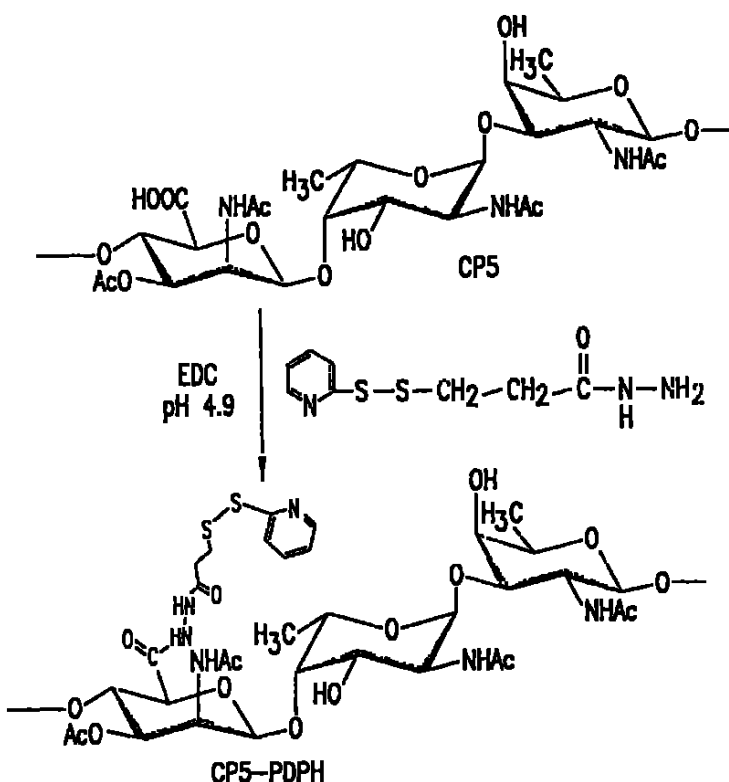
(74) Agent: ROZEK, Carol, E.; Wyeth, Patent Law Depart-  
ment, Five Girdle Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,  
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,  
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,  
GB, GD, GE, GR, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,

[Continued on next page]

(54) Title: POLYSACCHARIDE - STAPHYLOCOCCAL SURFACE ADHESIN CARRIER PROTEIN CONJUGATES FOR IM-  
MUNIZATION AGAINST NOSOCOMIAL INFECTIONS



(57) Abstract: Immunogenic polysaccharide-protein conjugates having a polysaccharide antigen (or its oligosaccharide fragment representing one or more antigenic epitopes) derived from a nosocomial pathogen conjugated to a staphylococcal surface adhesin carrier protein are used in immunogenic compositions to elicit antibody responses to both the polysaccharide antigen and the staphylococcal surface adhesin carrier protein. Such immunogenic compositions are used to immunize against diseases caused by Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis or other nosocomial pathogens.

GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).

— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the International search report:  
28 October 2004

**Published:**

— with International search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

|                                                                                                                                                    |                                    |                                                                                                                                                                              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SOLICITUD PARA<br/>RECORDACION DE<br/>CAMBIO DE INVENTOR<br/>Y SOLICITANTES EN LA<br/>SOLICITUD<br/>INTERNACIONAL BAJO<br/>LA REGLA 92bis.1</b> | <b>Solicitud Int'l #</b>           | <b>PCT/US2004/006661</b>                                                                                                                                                     |
|                                                                                                                                                    | <b>Título</b>                      | <b>CONJUGADOS DE<br/>POLISACARIDO-PROTEINA<br/>TRANSPORTADORA<br/>ADHESINA DE SUPERFICIE<br/>ESTAFILOCOCAL PARA<br/>INMUNIZACIÓN CONTRA<br/>INFECCIONES<br/>NOSOCOMIALES</b> |
|                                                                                                                                                    | <b>Fecha de Presentación Int'l</b> | <b>4 de marzo de 2004</b>                                                                                                                                                    |
|                                                                                                                                                    | <b>Solicitante</b>                 | <b>Wyeth Holdings Corporation</b>                                                                                                                                            |
|                                                                                                                                                    | <b>Inventor</b>                    | <b>PAVLIAK et al.</b>                                                                                                                                                        |
|                                                                                                                                                    | <b>Funcionario Autorizado</b>      | <b>A. Dullaart</b>                                                                                                                                                           |
|                                                                                                                                                    | <b>Expediente #</b>                | <b>AM101133 PCT</b>                                                                                                                                                          |

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20 Switzerland

Señor:

Según la Regla 92bis.1, el Solicitante Wyeth Holdings Corporation, por y a través de su agente suscrito, por el presente solicita que la Oficina Internacional registre los cambios relacionados con los Inventores y Solicitantes de la Solicitud Internacional anteriormente identificada según se expresa a continuación.

Respecto a la Inventores y Solicitantes en la solicitud anterior, se le ha comunicado al presente Solicitante que los siguientes Solicitantes adicionales e inventores adicionales deben ser agregados a la presente solicitud:

**SOLICITANTE ADICIONAL (PARA TODOS LOS ESTADOS DESIGNADOS EXCEPTO EU):**

**INHIBITEX, INC.  
9005 Westside Parkway  
Alpharetta, Georgia 30004  
Estados Unidos de América**

**SOLICITANTES (PARA EU UNICAMENTE) INVENTORES) ADICIONALES:**

**Joseph M. Patti  
6680 Stratford Place  
Cumming, Georgia 30040  
Estados Unidos de América (Nacionalidad: EU; Residencia: EU)**

**Bradley D. Prater  
1224 Jefferson Drive  
Atlanta, Georgia 30350  
Estados Unidos de América (Nacionalidad: EU; Residencia: EU)**

Por lo tanto se solicita respetuosamente que la Oficina Internacional registre a los Solicitantes e Inventores adicionales según se expresa anteriormente para que la información relacionada con los Solicitantes e Inventores correctos, según se

determine por investigación adicional, puedan ser incluidos en la presente Solicitud.

Presentado respetuosamente,

Fecha: 31 de agosto de 2005

(firma: ilegible)

Carol E. Rozek

Reg. No. 36.993

Wyeth

Patent Law Department

Five Giralda Farms

Madison, NJ 07940

Tel. 845-602-4760

|                                                                                                                                             |                            |                                                                                                                                                     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>REQUEST FOR RECORDATION OF<br/>CHANGE OF INVENTORSHIP AND<br/>APPLICANTS IN THE<br/>INTERNATIONAL APPLICATION<br/>UNDER RULE 92bis.1</b> | <b>Int'l Application #</b> | <b>PCT/US2004/006861</b>                                                                                                                            |
|                                                                                                                                             | <b>Title</b>               | <b>POLYSACCHARIDE-<br/>STAPHYLOCOCCAL SURFACE<br/>ADHESIN CARRIER PROTEIN<br/>CONJUGATES FOR<br/>IMMUNIZATION AGAINST<br/>NOSOCOMIAL INFECTIONS</b> |
|                                                                                                                                             | <b>Int'l Filing Date</b>   | <b>4 March 2004</b>                                                                                                                                 |
|                                                                                                                                             | <b>Applicant</b>           | <b>Wyeth Holdings Corporation</b>                                                                                                                   |
|                                                                                                                                             | <b>Inventor</b>            | <b>PAVLIAK et al.</b>                                                                                                                               |
|                                                                                                                                             | <b>Authorized Officer</b>  | <b>A. Dullaert</b>                                                                                                                                  |
|                                                                                                                                             | <b>Docket #</b>            | <b>AM101133 PCT</b>                                                                                                                                 |

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Sir:

Pursuant to Rule 92bis.1, the Applicant Wyeth Holdings Corporation, by and through its undersigned agent, hereby requests that the International Bureau record changes with regard to the Inventorship and Applicants of the above-identified International Application as set forth below.

With regard to the Inventorship and Applicants in the above application, it has come to the attention of the present Applicant that the following additional Applicants and additional Inventors need to be added to the present application:

**ADDITIONAL APPLICANT (FOR ALL DESIGNATED STATES EXCEPT US):**

**INHIBITEX, INC.**  
**9005 Westside Parkway**  
**Alpharetta, Georgia 30004**  
**United States of America**

**ADDITIONAL APPLICANTS (FOR US ONLY)/INVENTORS:**

**Joseph M. Patti**  
**6680 Stratford Place**  
**Cumming, Georgia 30040**  
**United States of America (Nationality: US; Residence: US)**

**Bradley D. Prater**  
**1224 Jefferson Drive**  
**Atlanta, Georgia 30350**  
**United States of America (Nationality: US; Residence: US)**

It is thus respectfully requested that the International Bureau record the additional Applicants and Inventors as set forth above so that the information regarding the correct Applicants and Inventors, as determined by further investigation, can be included in the present Application.

Respectfully submitted,

Date: 31 August 2005

Carol E. Rozek  
Carol E. Rozek  
Reg. No. 36,993

Wyeth  
Patent Law Department  
ve Giralda Farms  
Madison, NJ 07940  
Tel. 845-602-4760

De la  
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                |                                                                                                                                                                                         |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|-------------------------------------|---------------|-------------------|-------------------------------------|----------------|-----------|-------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|----------------|------------------------------|-------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|----------------|----------------------------|--------------------------|-----------------|------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------|
| Para:<br><br>ver forma PCT/ISA/220                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                | <b>PCT</b><br><br><b>OPINION ESCRITA DE LA<br/>AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL</b><br><br>(PCT Regla 43bis.1)                                                                       |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                | Fecha de envío por correo<br>(día/mes/año) ver forma PCT/ISA/220 (segunda página)                                                                                                       |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| Registro de referencia del solicitante<br>o agente<br>ver forma PCT/ISA/220                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                | <b>PARA FUTURAS ACCIONES</b><br>Ver el párrafo 2 a continuación                                                                                                                         |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| Solicitud Internacional No.<br>PCT/US2004/006661                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Fecha de registro internacional<br>(día/mes/año)<br>04.03.2004 | Fecha de prioridad<br>(día/mes/año)<br>07.03.2003                                                                                                                                       |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC<br>A61K47/48, C07K16/12, A61K39/385                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                |                                                                                                                                                                                         |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| Solicitante<br><br>WYETH HOLDINGS CORPORATION                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                |                                                                                                                                                                                         |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| 1. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems:<br><br><table border="0"> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. I</td> <td>Bases del Reporte</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. II</td> <td>Prioridad</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. III</td> <td>No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial.</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. IV</td> <td>Falta de unidad de invención</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. V</td> <td>Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación.</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. VI</td> <td>Ciertos documentos citados</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. VII</td> <td>Ciertos defectos en la solicitud internacional</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Casilla No. VIII</td> <td>Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional</td> </tr> </table> |                                                                |                                                                                                                                                                                         |  | <input checked="" type="checkbox"/> | Casilla No. I | Bases del Reporte | <input checked="" type="checkbox"/> | Casilla No. II | Prioridad | <input checked="" type="checkbox"/> | Casilla No. III | No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial. | <input checked="" type="checkbox"/> | Casilla No. IV | Falta de unidad de invención | <input checked="" type="checkbox"/> | Casilla No. V | Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación. | <input checked="" type="checkbox"/> | Casilla No. VI | Ciertos documentos citados | <input type="checkbox"/> | Casilla No. VII | Ciertos defectos en la solicitud internacional | <input checked="" type="checkbox"/> | Casilla No. VIII | Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Casilla No. I                                                  | Bases del Reporte                                                                                                                                                                       |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Casilla No. II                                                 | Prioridad                                                                                                                                                                               |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Casilla No. III                                                | No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial.                                                                                           |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Casilla No. IV                                                 | Falta de unidad de invención                                                                                                                                                            |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Casilla No. V                                                  | Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación. |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Casilla No. VI                                                 | Ciertos documentos citados                                                                                                                                                              |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Casilla No. VII                                                | Ciertos defectos en la solicitud internacional                                                                                                                                          |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Casilla No. VIII                                               | Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional                                                                                                                                  |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| 2. ACCIONES FUTURAS<br>Si se hace una demanda para examen preliminar internacional, esta opinión generalmente será considerada como una opinión escrita de la Autoridad Examinadora Preliminar ("IPEA"). Sin embargo, esto no aplica cuando el solicitante escoge una Autoridad diferente a ésta para que sea la IPEA y la IPEA escogida le ha notificado a la Oficina Internacional de conformidad con la Regla 66.1bis(b) que no se considerarán las opiniones escritas de esta Autoridad Examinadora Preliminar.<br><br>Si esta opinión es, según se estipula anteriormente, considerada una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a presentar ante la IPEA una respuesta escrita junto, cuando sea apropiado, con modificaciones, antes de la fecha de expiración de tres meses desde la fecha de envío por correo de la Forma PCT/ISA/220 o antes de la fecha de expiración de 22 meses desde la fecha de prioridad, la que expire más tarde.<br><br>Para opciones futuras, ver la Forma PCT/ISA/220                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                |                                                                                                                                                                                         |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| 3. Para detalles adicionales, ver las notas a la Forma PCT/ISA/220                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                |                                                                                                                                                                                         |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |
| Nombre y dirección de correo de ISA:<br>Oficina Europea de Patentes-P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas<br>Tel .+31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl<br>Fax:+31 70 340 - 3016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                | Funcionario Autorizado<br><br>Dullaart, A<br>Teléfono No. +31 70 340-3290                                                                                                               |  |                                     |               |                   |                                     |                |           |                                     |                 |                                                                                               |                                     |                |                              |                                     |               |                                                                                                                                                                                         |                                     |                |                            |                          |                 |                                                |                                     |                  |                                                        |

**OPINION ESCRITA DE LA  
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud Internacional No.  
PCT/US2004/006661

**Casilla No. I. Bases de la opinión**

1. Respecto al idioma, esta opinión se ha establecido según la solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó, a menos que se indique de otro modo bajo este ítem.

☐ Esta opinión se ha establecido según una traducción del idioma original al siguiente idioma, que es el idioma de una traducción proporcionada para la búsqueda internacional (bajo las Reglas 12.3 y 23.1(b)).

2. Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:

a. tipo de material:

- ☐ un listado de secuencia  
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia

b. formato de material:

- ☐ en formato escrito  
☐ en formato legible por computador

c. tiempo de presentación/suministro:

- ☐ contenido en la solicitud internacional según se registró  
☐ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador  
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda.

3. ☐ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.

4. Comentarios adicionales:

**OPINION ESCRITA DE LA  
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud Internacional No.  
PCT/US2004/006661

---

**Casilla No. II Prioridad**

---

1. ☒ No se ha presentado el siguiente documento:

☒ copia de la solicitud anterior cuya prioridad se ha reivindicado (Regla 43bis.1 y 66.7(a)).

☐ traducción de la solicitud anterior cuya prioridad se ha reivindicado (Regla 43bis.1 y 66.7(b)).

Por consiguiente, no ha sido posible considerar la validez de la reivindicación de prioridad. Sin embargo, se ha establecido esta opinión sobre el supuesto de que la fecha relevante es la fecha de la prioridad reivindicada.

2. ☐ Se ha establecido esta opinión como si no se hubiese reivindicado ninguna prioridad debido al hecho de que se ha encontrado que la reivindicación de prioridad es inválida (Reglas 43bis.1 y 64.1). Por consiguiente, para los fines de esta opinión, se considera que la fecha de registro internacional indicada anteriormente es la fecha relevante.

3. Observaciones adicionales, si es necesario:

Casilla No. III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial

Las preguntas de si la invención reivindicada parece ser novedosa, comprender un paso inventivo (ser no obvia) o ser aplicable industrialmente no se han examinado respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional,
- ☒ reivindicaciones Nos. 1-31 en parte

porque:

- ☐ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 1-29 y 31-38 (todas parcialmente) se relacionan con la siguiente materia objeto que no requiere un examen preliminar internacional (*especifique*):
- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique los elementos particulares a continuación*) de dichas reivindicaciones Nos.        son tan poco claros que no se podría formar una opinión significativa (*especifique*):
- ☐ las reivindicaciones, o dichas reivindicaciones Nos. 1 (parcialmente) son sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no se podría formar una opinión significativa.
- ☒ no se ha establecido ningún reporte de búsqueda internacional para toda la solicitud o para dichas reivindicaciones Nos. 1-31 en parte.
- ☐ El nucleótido y/o lista de secuencia aminoácida no cumple con el estándar proporcionado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas en que:
  - la forma escrita
    - ☐ no se ha proporcionado
    - ☐ no cumple con el estándar
  - el formato legible por computador
    - ☐ no se ha proporcionado
    - ☐ no cumple con el estándar
- ☐ las tablas relacionadas con el nucleótido y/o lista de secuencia aminoácida, si están en formato legible por computador únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos proporcionados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver la hoja separada para más detalles.

Casilla No. IV Falta de Unidad de Invención

1. En respuesta a la invitación (Formato PCT/ISA/206) para pagar gastos adicionales, el solicitante tiene:
  - ☐ pagado los gastos adicionales
  - ☐ pagado los gastos adicionales bajo protesta
  - ☐ ni ha restringido, ni ha pagado los gastos adicionales
2. ☒ Esta Autoridad encontró que el requerimiento de unidad no cumplió con y decidió no invitar al solicitante para pagar gastos adicionales
3. Esta Autoridad considera que el requerimientos de unidad de invención de conformidad con la Regla 13.1, 13.2 y 13.3 son :
  - ☐ todas las partes
  - ☒ no cumplió con las siguientes razones  
ver hoja separada
4. En consecuencia, las siguientes partes de la solicitud internacional estuvieron sujetas al examen preliminar al establecer este concepto:
  - ☒ en todas las partes
  - ☐ las partes que relacionan las reivindicaciones Nos. .

Casilla No. V Afirmación razonada bajo la Regla 43bis.1(a)(i) respecto a novedad, paso inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Declaración
 

|                               |                                           |
|-------------------------------|-------------------------------------------|
| Novedad (N)                   | Sí: Reivindicaciones 1-26                 |
|                               | No: Reivindicaciones 27-31                |
| Nivel inventivo (IS)          | Sí: Reivindicaciones                      |
|                               | No: Reivindicaciones 1-31                 |
| Aplicabilidad industrial (IA) | Sí: Reivindicaciones 1-24, 27, 28, 30, 31 |
|                               | No: Reivindicaciones 25, 26, 29           |
2. Citaciones y explicaciones  
ver hoja separada

---

**Casilla No. VI Algunos documentos citados**

---

1. Algunos documentos publicados (Reglas 43bis. 1 y 70.10)  
y/o
2. Falta de relevantes escritos (Reglas 43bis.1 y 70.9)  
  
ver forma 210

---

**Casilla No. VII Algunos observaciones sobre la solicitud internacional**

---

Han sido realizadas las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, la descripción y los dibujos o sobre la cuestión de saber si las reivindicaciones son apoyadas completamente por la descripción, están hechas:

ver hoja separada

**Re Item III.**

En la presente solicitud, la Autoridad de Búsqueda Internacional ha restringido la búsqueda debido a las siguientes objeciones bajo los artículos 5 y 6 de PCT.

Las reivindicaciones presentes 1-18 y 24-27 se relacionan con un número extremadamente grande de conjugados posibles, así como composiciones que contienen tales conjugados y su uso. Se encontrará soporte dentro del significado del Artículo 6 PCT y/o revelación dentro del significado del Artículo 5 PCT, sin embargo, para solamente una proporción muy pequeña de los conjugados reivindicados. En el caso presente, las reivindicaciones carecen tanto de soporte, y la solicitud carece tanto de revelación, que una búsqueda significativa sobre el total del alcance reivindicado es imposible. En consecuencia, se ha realizado la búsqueda para aquellas partes de las reivindicaciones que parecen estar soportadas y revelados, a saber, aquellas partes que se relacionan con los conjugados preparados y probados en los ejemplos.

Como no es posible formar una opinión sobre el objeto no buscado, lo siguiente debe ser limitado consecuentemente.

Las reivindicaciones 25, 26 y 29 se relacionan con el objeto considerado por esta Autoridad como cubierto por las provisiones de la Regla 67.1(iv) PCT. En consecuencia, no se formulará opinión con respecto a la aplicabilidad industrial del objeto de estas reivindicaciones (Artículo 34(4)(a)(i) PCT).

**Re Item IV.**

Las invenciones/grupos de invenciones separadas son:

| No. | Reivindicaciones | Objeto                                                                                                                                                                                                                             |
|-----|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | 1-26             | Conjugado según las reivindicaciones 1-16, una composición inmunogénica según las reivindicaciones 17-24 que contiene tal conjugado, y el método de inmunización activa, usando esta composición según las reivindicaciones 25-26. |
| 2.  | 27-31            | Globulina hiperinmune, su preparación y su uso en inmunización pasiva, según estas reivindicaciones                                                                                                                                |

Estas no están tan ligadas como para formar un solo concepto inventivo general (Regla 13.1 PCT) por las siguientes razones:

El problema que subyace la presente solicitud es proveer conjugados, composiciones y métodos para inmunización contra spp estafilococo. Se proveen dos soluciones a este problema en la presente solicitud:

1. inmunización activa usando los conjugados según las reivindicaciones 1-16 en una composición inmunogénica según las reivindicaciones 17-24, i.e., el método según las reivindicaciones 25-26.
2. inmunización pasiva, usando una globulina hiperinmune que contiene anticuerpos producidos por estos inmunógenos.

La característica técnica que estas dos soluciones tienen un común es el hecho que tanto los polisacáridos capsulares como la proteína de adhesina de superficie, pueden producir una respuesta inmune.

Sin embargo, los anticuerpos contra estos 2 antígenos diferentes ya existen. Esto es conocido de inter alia WO-A-00/71585, en la cual estos anticuerpos se usan para inmunización pasiva. Aunque el método de preparación como se reivindicó puede ser diferente al descrito anteriormente, la globulina hiperinmune resultante se caracteriza por una inmunidad pasiva contra los mismos antígenos que se describen en este documento, y en el documento PARK HEE-MYUNG ET AL: "Immunogenicity of alpha-toxin, capsular polysaccharide (CPS) and recombinant fibronectin-binding protein (r-FnBP) of Staphylococcus aureus in rabbit" JOURNAL OF VETERINARY MEDICAL SCIENCE, vol. 81, no. 9, Septiembre 1999 (1999-09), páginas 995-1000; ISSN: 0916-7250.

Por lo tanto, estos anticuerpos no pueden servir más como característica técnica especial en el sentido de la Regla 13 PCT, que une los diferentes objetos. Como no hay otra característica técnica, esto podría cumplir el papel de característica técnica especial en el sentido de la Regla 13 PCT, la presente solicitud carece de unidad de invención, conteniendo los objetos como se listaron.

**Re Item V.**

1. Se hace referencia a los siguientes documentos en esta comunicación:

**D1: Fattom A et al: "Laboratory and clinical evaluation of conjugate vaccines composed of Staphylococcus aureus type 5 and type 8 capsular polysaccharides bound to Pseudomonas aureginosa recombinant exoprotein A"**  
**Infection And Immunity, American Society For Microbiology, Washington, US, vol. 61, no. 3, Marzo 1993 (1993-03), páginas 1023-1032, XP001109265. ISSN: 0019-9567.**

## OPINION ESCRITA DE LA

AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(HOJA SEPARADA)

Solicitud Internacional No.

PCT/US2004/006661

- 
- D2:** Fattom A I et al: "A *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide (CP) vaccine and PC-specific antibodies protect mice against bacterial challenge"  
*Infection And Immunity, United States*, vol. 64, no. 5, 1996, páginas 1659-1665, XP002293940. ISSN: 0019-9567.
- D3:** Scheneerson R et al: "Evaluation of monophosphoryl lipid A (MPL) as an adjuvant: Enhancement of the serum antibody response in mice to polysaccharide-protein conjugates by concurrent injection with MPL"  
*Journal of immunology, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, US*, vol. 147, no. 7, 1991, páginas 2136-2140, XP002149951, ISSN: 0022-1767.
- D4:** Shinefield H et al: "Use of a *Staphylococcus aureus* conjugate vaccine in patients receiving hemodialysis"  
*New England Journal of Medicine*, vol. 346, no. 7, Febrero 14, 2002 (2002-02-14), páginas 491-496, XP002967410 ISSN: 0028-4793.
- D5:** Welch P G et al: "Safety and immunogenicity of *staphylococcus aureus* type 5 capsular polysaccharide-pseudomonas aeruginosa recombinant exoprotein A conjugate vaccine in patients on hemodialysis"  
*Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 7, 1996, páginas 247-253, XP002967409 ISSN: 1046-6673.
- D6:** WO 01/72337 A (Gorringe Andrew Richard; Hudson Michael John (GB); MICROBIOLOGICAL RE), Octubre 4 de 2001 (2001-10-04).
- D7:** WO 01/70685 A (Solulink Inc; Schwartz David A (US)), Septiembre 27 de 2001.
- D8:** WO 95/08348 A (Jackson H M Found Military Med), Marzo 1995.
- D9:** WO 00/56359 A (Desmons Pierre Michel; Prieels Jean Paul (BE); SmithKline Beecham Blo), Septiembre de 2000 (2000-09-28).
- D10:** WO 99/03871 A (Scheneerson Rachel; Pozsgay Vince (US); US Health Robbins John A), Enero 28 de 1999 (1999-01-28).
- D11:** EP 1 034 792 A (Pasteur Melreux Serums Vacc, Jonsdottir Ingileit (IS)), Septiembre 13 de 2000 (2000-09-13).
- D12:** Konadu et al: "Preparation, characterization, and immunological properties in mice of *Escherichia coli* O157 O-specific polysaccharide-protein conjugate vaccines".  
*Infection And Immunity*, vol., 62, no. 11, Noviembre 1994 (1994-11), páginas 5048-5054, XP002912908. ISSN: 0019-9567.
- D13:** Devi S J N et al: "Antibodies to poly[(2->6)-[alpha]-N-acetylneuraminic acid] and
- Forma PCT/Hoja separada/237 (Hoja 3) (EPO - Enero de 2004)

- poly[(2->9)-[alpha]-N-acetylneuraminic acid] are elicited by immunization of mice with Escherichia coli K92 conjugates: Potential vaccines for groups B and C meningococci and E. coli K1".**  
**Proceedings of The National Academy of Sciences of USA, vol. 88, no. 16, Agosto 1991 (1991-08-15), páginas 7175-7179, XP002044636 ISSN: 0027-8424.**
- D14: WO 94/10317 A (Brigham & Women's Hospital; Gen Hospital Corp (US)), Mayo 11 de 1994 (1994-05-11).**
- D15: WO 00/12131 A (Trinity College Dublin; Texas A & M University Syst (US); Inhibitex I), Marzo 9 de 2000 (2000-03-09).**
- D16: CA 2 351 018 A (UNIV SHERBROOKE); Enero 9 de 2003 (2003-01-09).**
- D17: Josefsson E et al: "Protection Against Staphylococcus Aureus Arthritis by Vaccination with Clumping Factor A, a Novel Virulence Determinant"**  
**Immunology Letters, Amsterdam, NL, vol. 73, no. 2/3, Septiembre 2000 (2000-09), páginas 153-154, XP009029019 ISSN: 0165-2478.**
- D18: Josefsson E et al: "Protection Against experimental Staphylococcus aureus arthritis by vaccination with Clumping Factor A, a Novel Virulence Determinant"**  
**Journal of Infectious Diseases, Chicago, IL, US, vol. 184, no. 12, Diciembre 15 de 2001 (2001-12-15), páginas 1572-1580, XP009028976 ISSN: 0022-1899.**
- D19: Casolini F et al: "Antibody response to fibronectin-binding adhesion FnbpA in patients with Staphylococcus aureus infections"**  
**Infection And Immunity, American Society for Microbiology, Washington, US, vol. 66, no. 11, Noviembre 1998 (1998-11), páginas 55433-5442, XP002222372.**
- D20: Mamo W et al: "Vaccination With Staphylococcus Aureus Fibrinogen Binding Proteins (Fgbps) Reduces Colonisation of S. aureus in A Mouse Mastitis Model".**  
**Fems Immunology And Medical Microbiology, Elsevier Science B.V., Amsterdam, NL, vol. 10, no. 1, Noviembre 1 de 1994 (1994-11-01), páginas 47-54, XP000619735 ISSN: 0928-8244.**
- D21: PARK HEE-MYUNG et al: "Immunogenicity of alpha-toxin, capsular polysaccharide (CPS) and recombinant fibronectin-binding protein (r-FnBP) of Staphylococcus aureus in rabbit"**  
**Journal of Veterinary Medical Science, vol. 81, no. 9, September 1999 (1999-09), pages 995-1000; ISSN: 0916-7250.**

- D22:** Fattom A et al: "Effect of conjugation methodology, carrier protein, and adjuvants on the immune response to Staphylococcus aureus capsular polysaccharides"  
Vaccine, Butterworth Scientific, Guildford, GB, vol. 13, no. 14, Octubre 1 de 1995 (1995-10-01), páginas 1288-1293, XP004057129. ISSN: 0264-410X.
- D23:** WO 86/06635 A (Biotech Australia Pty Ltd), Noviembre 20 de 1986 (1986-11-20).
- D24:** WO 00/71585 A (MEDAREX INC), Noviembre 30 de 2000 (2000-11-30).
- D25:** Han Hong Ryul et al: "Determination of alpha-toxin antibodies against Staphylococcus aureus and phagocytic ability postimmunization in rabbits"  
BOVINE PRECITATIONER, no. 32 PARTE 1, Enero de 1998 (1998-01), páginas 14-17, XP008034262; ISSN: 0524-1685 0524-1685.

El Documento D1 revela que el péptido usado en el conjugado es exoproteína A de P. aeruginosa y el polisacárido es CP5 o CP8.

El Documento D2 revela principalmente CP5, conjugado a la exotoxina A de P. aeruginosa.

El Documento D3 describe una vacuna de conjugado de polisacárido-proteína que consiste de exotoxina A de Pseudomonas aeruginosa y polisacárido capsular de Staphylococcus aureus tipos 5 y 8.

El Documento D4 describe una vacuna con polisacáridos capsulares de S aureus tipo 5 y 8 conjugados a exotoxina A de Pseudomonas aureginosa recombinante no tóxica, y los títulos de anticuerpo resultantes de la vacuna con este conjugado.

El Documento D5 revela vacunas conjugadas, en las cuales el polisacárido es polisacárido capsular de staphylococcus aureus tipo 5 (CP5), y la proteína exoproteína A de pseudomonas aureginosa recombinante. Según la tabla 5, la proteína también produce una respuesta de anticuerpo.

El Documento D6 revela un conjugado de antígeno de una proteína (proteína de enlace de transferina) con polisacáridos capsulares a partir de meningococcus.

El Documento D7 revela el principio de vacunas conjugadas: ver página 33, línea 24 a página 34, línea 16. Tal vacuna de conjugado se prepara en el Ejemplo 29 (polisacárido TT y bacteriano).

El Documento D8 revela conjugados antigénicos que contienen un polisacárido unido a una proteína. Según el ejemplo 4, también se obtiene un efecto antigénico contra la proteína.

El Documento D9 revela vacunas conjugadas con base en una proteína diferente. Los polisacáridos vienen de Streptococcus pneumoniae (reivindicada) y Haemophilus influenzae B (ejemplo 10).

Forma PCT/Hoja separada/237 (Hoja 5) (EPO - Enero de 2004)

**OPINION ESCRITA DE LA  
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL  
(HOJA SEPARADA)**

Solicitud Internacional No.  
PCT/US2004/006661

El Documento D10 revela conjugados antigénicos, in los cuales un (oligo?)sacárido está conjugado a una proteína.

El Documento D11 revela otra vacuna conjugada: polisacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae*, y como Proteína: TT o diiphtheriae.

El Documento D12 revela que el polisacárido es derivado de *Escherichia coli* O157, y la proteína es BSA, exotoxina C de *Clostridium welchii* o exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa*.

El Documento D13 revela vacunas, en las cuales el polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* es conjugado via hidrazida de ácido adípico a toxoide de tétanos.

El Documento D14 reivindica el mismo principio: antígenos del tipo proteína y polisacárido de un solo microorganismo son combinados para formar una vacuna. Esta vez el microorganismo es un estreptococo.

Los Documentos D15 a D17 describen el uso de las proteínas vehículo reivindicadas como una vacuna.

El Documento D18 revela la protección contra artritis de *Staphylococcus aureus* mediante vacunación (tanto inmunización pasiva como activa) con agregación del factor A.

El Documento D19 revela que, a pesar de los anticuerpos, la afinidad de *S. aureus* para fibroectina no cambió.

El Documento D20 revela que la vacunación con proteínas de enlace de fibrinógeno de *Staphylococcus aureus* (FgBPs) reduce la colonización de *S. aureus* en un modelo de mastitis de ratón, como también lo indica el título. La preparación de la vacuna se puede encontrar en la página 48.

El Documento D21 revela el uso de una mezcla de ambos componentes usados en la vacuna conjugada presentemente reivindicada, para el mismo propósito de vacunación. Como se puede ver en las figuras 1 y 2, esta mezcla de hecho produce IgG específico para la proteína y el polisacárido capsular.

El Documento D22 revela los efectos de la elección de vehículo de proteína y del enlace de una vacuna conjugada, que contiene principalmente CP8.

Resumiendo, las vacunas conjugadas con CP5 o CP8 están conjugadas a una proteína bacteriana para mejorar sus propiedades inmunogénicas, están reveladas en D1 a D5 y D22. En los documentos D6 a D14, el polisacárido es de un origen diferente.

Aunque las vacunas conjugadas presentemente reivindicadas se pueden distinguir de esta técnica previa mediante la elección de la parte de proteína en el conjugado, no pueden considerarse que involucran un mérito inventivo. De hecho, es obvio para la persona experta reemplazar una proteína vehículo de origen bacteriano por otra proteína de origen bacteriano. Más aún, como es claro a partir de D21, se esperaba que se produjeran los anticuerpos contra la parte de proteína. Por lo tanto, el objeto de las reivindicaciones 1-26 no parece cumplir los requerimientos del Artículo 33.3 PCT por mérito inventivo.

**OPINION ESCRITA DE LA  
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL  
(HOJA SEPARADA)**

Solicitud Internacional No.  
PCT/US2004/006661

Incluso más, ya que las proteínas de vehículo presentemente reivindicadas son conocidas por ser inmunogénicas: ver cualquier de los documentos D15 a D20. Así, cuando de parte de cualquiera de D1 a D5 o D22, el experto, que quiere resolver el problema de proveer vacunación contra *Staphylococcus* spp., ciertamente escogería reemplazar la proteína vehículo por una de origen estafilocócico, llegando así a la invención número 1 presentemente reivindicada.

Más aún, D19 revela que, a pesar de los anticuerpos, la afinidad de *S. aureus* para fibroectina no cambió. Por lo tanto, el hecho que los anticuerpos son de hecho producidos, como se demuestra en los ejemplos de la presente solicitud, no es suficiente para inducir inmunidad activa como se mencionó en las reivindicaciones 25-26. Por lo tanto, como este documento lanza una duda seria de si el problema que subyace estas reivindicaciones está realmente resuelto, la presente Autoridad tampoco puede reconocer un nivel inventivo en el sentido del Artículo 33.3 PCT.

Finalmente, la presente autoridad debe señalar que los ejemplos en la presente solicitud solo permiten concluir que los conjugados de CP5 o CP8 de hecho si producen una respuesta de anticuerpo. Para conjugados de otros polisacáridos, esto permanece demostrado. Por lo tanto, en ausencia de datos soportando esta generalización, la presente autoridad no puede reconocer un nivel inventivo en el sentido del Artículo 33.3 PCT sobre el alcance total que es reivindicado.

Volviendo a la invención número 2, los siguientes documentos son de relevancia particular.

El Documento D21 revela el uso de una mezcla de ambos componentes usada en la vacuna conjugada presentemente reivindicada, para el mismo propósito de vacunación. Como se puede ver en, e.g., las figuras 1 y 2, esta mezcla de hecho si produce IgG específico para la proteína y el polisacárido capsular.

El documento D24 revela anticuerpos específicos para los antígenos descritos en la presente solicitud, cayendo así bajo la definición de las reivindicaciones 28-31.

El Documento D25 revela el uso de una mezcla para adquirir IgG. Este pasaje en la página 16, columna derecha, menciona un conteo bacteriano significativamente menor después de esta vacunación.

La presente solicitud no provee al experto suficiente información para distinguir estos anticuerpos o globulina hiperinmune a partir de lo reivindicada presentemente. Por lo tanto, los requerimientos del Artículo 33.2 PCT para novedad no parecen cumplirse.

Para la evaluación de las presentes reivindicaciones 25, 26 y 29, acerca de la pregunta si son aplicables industrialmente, no existe un criterio unificado en los Estados Contratantes de PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable el objeto de las reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero pueden permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para uso primero en un tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

**Re Item VIII.**

Las presentes reivindicaciones 1-18 y 24-27 se relacionan con un número extremadamente grande de conjugados posibles, así como composiciones que contienen tales conjugados y su uso. Se encontrará soporte dentro del significado del Artículo 6 PCT y/o revelación dentro del significado del Artículo 5 PCT, sin embargo, para solamente una proporción muy pequeña de los conjugados reivindicados. En el caso presente, las reivindicaciones carecen de soporte, y la solicitud carece de revelación

Más aún, las reivindicaciones 1-18 y 24-27 no cumplen los requerimientos del Artículo 6 PCT porque la materia para la cual se busca protección no está definida claramente. Las reivindicaciones intentan definir el objeto en términos del resultado a ser alcanzado, que simplemente equivale a una declaración del problema subyacente, sin proveer las características técnicas necesarias para alcanzar este resultado.

Las reivindicaciones 27-31 se relacionan con una globulina hiperinmune, su preparación, y su uso en la vacunación pasiva contra una infección nosocomial. Sin embargo, en la presente solicitud, solamente se ha revelado la inmunización activa usando el antígeno correspondiente. También, el solicitante no ha indicado mediante cuales características técnicas la globulina hiperinmune presentemente reivindicada puede ser distinguida de una globulina hiperinmune como la producida por una mezcla de los mismos antígenos. Por lo tanto, estas reivindicaciones no cumplen los requerimientos del Artículo 6 PCT, porque la materia para la cual se busca protección no está definida claramente. Adicionalmente, sus objetos no han sido suficientemente revelados, contrario a los requerimientos del Artículo 5 PCT.

From the  
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE  
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY  
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing

(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference

see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.

PCT/US2004/006661

International filing date (day/month/year)

04.03.2004

Priority date (day/month/year)

07.03.2003

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC

A61K47/48, C07K16/12, A61K39/385

Applicant

WYETH HOLDINGS CORPORATION

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☒ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43b/s.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of three months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas  
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 851 epo nl  
Fax: +31 70 340 - 3016

Authorized Officer

Dullaart, A

Telephone No. +31 70 340-3290



5A

**WRITTEN OPINION OF THE  
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.  
PCT/US2004/006661

---

**Box No. I Basis of the opinion**

---

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.  
☐ This opinion has been established on the basis of a translation from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rules 12.3 and 23.1(b)).
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
  - a. type of material:  
☐ a sequence listing  
☐ table(s) related to the sequence listing
  - b. format of material:  
☐ in written format  
☐ in computer readable form
  - c. time of filing/furnishing:  
☐ contained in the international application as filed.  
☐ filed together with the international application in computer readable form.  
☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE  
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**International application No.  
PCT/US2004/006661

---

**Box No. II Priority**

---

1. ☒ The following document has not been furnished:

- ☒ copy of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 43*bis*.1 and 66.7(a)).
- ☐ translation of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 43*bis*.1 and 66.7(b)).

Consequently it has not been possible to consider the validity of the priority claim. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date is the claimed priority date.

2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43*bis*.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.

3. Additional observations, if necessary:

**WRITTEN OPINION OF THE  
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

61  
International application No.  
PCT/US2004/006661

**Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, Inventive step and Industrial applicability**

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application,  
☒ claims Nos. 1-31 in part

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):
- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.
- ☒ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos. 1-31 in part
- ☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:
- |                            |                                                            |
|----------------------------|------------------------------------------------------------|
| the written form           | <input type="checkbox"/> has not been furnished            |
|                            | <input type="checkbox"/> does not comply with the standard |
| the computer readable form | <input type="checkbox"/> has not been furnished            |
|                            | <input type="checkbox"/> does not comply with the standard |
- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
- ☐ See separate sheet for further details

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☐ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has:
- ☐ paid additional fees.
  - ☐ paid additional fees under protest.
  - ☐ not paid additional fees.
2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
  - ☒ not complied with for the following reasons:  
**see separate sheet**
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☒ all parts.
  - ☐ the parts relating to claims Nos.

Box No. V Reasoned statement under Rule 43b/a.1(a)(I) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

|                               |             |                      |
|-------------------------------|-------------|----------------------|
| Novelty (N)                   | Yes: Claims | 1-26                 |
|                               | No: Claims  | 27-31                |
| Inventive step (IS)           | Yes: Claims |                      |
|                               | No: Claims  | 1-31                 |
| Industrial applicability (IA) | Yes: Claims | 1-24, 27, 28, 30, 31 |
|                               | No: Claims  | 25, 26, 29           |

2. Citations and explanations

**see separate sheet**

**WRITTEN OPINION OF THE  
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.  
PCT/US2004/006661

---

**Box No. VI Certain documents cited**

---

1. Certain published documents (Rules 43*bis*.1 and 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rules 43*bis*.1 and 70.9)

see form 210

---

**Box No. VIII Certain observations on the international application**

---

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

**Re Item III.**

In the present application, the International Searching Authority has restricted the search because of the following objections under Articles 5 and 6 PCT.

Present claims 1-18 and 24-27 relate to an extremely large number of possible conjugates, as well as to compositions containing such conjugates and their use. Support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT is to be found, however, for only a very small proportion of the conjugates claimed. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be supported and disclosed, namely those parts relating to the conjugates prepared and tested in the examples.

As it is not possible to form an opinion on unsearched subject-matter, the following must be limited accordingly.

Claims 25, 26 and 29 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(i) PCT).

**Re Item IV.**

The separate inventions/groups of inventions are:

| No. | Claims | Subject                                                                                                                                                                                                     |
|-----|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | 1-26   | Conjugate according to claims 1-16, an immunogenic composition according to claims 17-24 containing such conjugate, and the method of active immunisation, using this composition according to claims 25-26 |
| 2.  | 27-31  | Hyperimmune globulin, its preparation, and its use in passive immunisation, according to these claims.                                                                                                      |

They are not so linked as to form a single general inventive concept (Rule 13.1 PCT) for the following reasons:

The problem underlying the present application is to provide conjugates, compositions and methods for immunisation against *Staphylococcus* spp. 2 solutions to this problem are provided in the present application:

1. active immunisation, using the conjugates according to claims 1-16 in an immunogenic composition according to claims 17-24, i.e., the method according to claims 25-26.
2. passive immunisation, using a hyperimmune globulin containing antibodies elicited by these immunogens.

The technical feature these 2 solutions have in common is the fact, that both capsular polysaccharides and surface adhesin protein can elicit an immune response.

However, antibodies against these 2 different antigens already exist. This is known from inter alia **WO-A-00/71585**, in which these antibodies are used for passive immunisation. Although the preparation method as claimed may be different from those described previously, the resulting hyperimmune globulin is characterised by a passive immunity against the same antigens as described in this document, and in document **PARK HEE-MYUNG ET AL: "Immunogenicity of alpha-toxin, capsular polysaccharide (CPS) and recombinant fibronectin-binding protein (r-FnBP) of *Staphylococcus aureus* in rabbit"** **JOURNAL OF VETERINARY MEDICAL SCIENCE**, vol. 61, no. 9, September 1999 (1999-09), pages 995-1000, ISSN: 0916-7250.

Therefore, these antibodies can no longer serve as special technical feature in the sense of Rule 13 PCT, linking the different subjects together.

Since there is no other technical feature, that could fulfil the role of special technical feature in the sense of Rule 13 PCT, the present application lacks unity of invention, containing the subject-matters as listed.

**Re Item V.**

- 1 The following documents are referred to in this communication:

**D1: Fattom A et al: "Laboratory and clinical evaluation of conjugate vaccines composed of *Staphylococcus aureus* type 5 and type 8 capsular polysaccharides bound to *Pseudomonas aeruginosa* recombinant exoprotein A"**  
**Infection And Immunity, American Society For Microbiology. Washington, US, vol. 61, n . 3, March 1993 (1993-03), pages 1023-1032, XP001109265**

ISSN: 0019-9567

- D2: Fattom A I et al: "A Staphylococcus aureus capsular polysaccharide (CP) vaccine and CP- specific antibodies protect mice against bacterial challenge"**  
Infection And Immunity, United States, vol. 64, no. 5, 1996, pages 1659-1665, XP002293940 ISSN: 0019-9567
- D3: Schneerson R et al: "Evaluation of monophosphoryl lipid A (MPL) as an adjuvant: Enhancement of the serum antibody response in mice to polysaccharide-protein conjugates by concurrent injection with MPL"**  
Journal of Immunology, The Williams And Wilkins Co. Baltimore, US, vol. 147, no. 7, 1991, pages 2136-2140, XP002149961 ISSN: 0022-1767
- D4: Shinefield H et al: "Use of a Staphylococcus aureus conjugate vaccine in patients receiving hemodialysis"**  
New England Journal of Medicine, vol. 346, no. 7, 14 February 2002 (2002-02-14), pages 491-496, XP002967410 ISSN: 0028-4793
- D5: Welch P G et al: "Safety and Immunogenicity of staphylococcus aureus type 5 capsular polysaccharide-pseudomonas aeruginosa recombinant exoprotein A conjugate vaccine in patients on hemodialysis"**  
Journal of The American Society of Nephrology, vol. 7, 1996, pages 247-253, XP002967409 ISSN: 1046-6673
- D6: WO 01/72337 A (Gorringe Andrew Richard ; Hudson Michael John (GB); MICROBIOLOGICAL RE) 4 October 2001 (2001-10-04)**
- D7: WO 01/70685 A (Solulink Inc ; Schwartz David A (US)) 27 September 2001**
- D8: WO 95/08348 A (Jackson H M Found Military Med) 30 March 1995**
- D9: WO 00/56359 A (Desmons Pierre Michel ; Prieels Jean Paul (BE); Smithkline Beecham Bio) 28 September 2000 (2000-09-28)**
- D10: WO 99/03871 A (Schneerson Rachel ; Pozsgay Vince (US); US Health (US); Robbins John B) 28 January 1999 (1999-01-28)**
- D11: EP 1 034 792 A (Pasteur Merieux Serums Vacc ; Jonsdottir Ingileif (IS)) 13 September 2000 (2000-09-13)**
- D12: Konadu E et al: "Preparation, characterization, and immunological properties in mice of Escherichia coli O157 O-specific polysaccharide-protein conjugate vaccines"**  
Infection And Immunity,, vol. 62, no. 11, November 1994 (1994-11), pages 5048-5054, XP002912809 ISSN: 0019-9567
- D13: Devi S J N et al: "Antibodies to poly[(2->8)-[alpha]-N-acetylneuraminic acid]**

and poly[(2->9)-[alpha]-N-acetylneuraminic acid] are elicited by immunization of mice with Escherichia coli K92 conjugates: Potential vaccines for groups B and C meningococci and E. coli K1"

Proceedings of The National Academy of Sciences of USA, vol. 88, no. 16, 15 August 1991 (1991-08-15), pages 7175-7179, XP002044636 ISSN: 0027-8424

D14: WO 94/10317 A (Brigham & Women's Hospital ; Gen Hospital Corp (US)) 11 May 1994 (1994-05-11)

D15: WO 00/12131 A (Trinity College Dublin ; Texas A & M University Syst (US); Inhibitex I) 9 March 2000 (2000-03-09)

D16: CA 2 351 018 A (UNIV SHERBROOKE) 9 January 2003 (2003-01-09)

D17: Josefsson E et al: "Protection Against Staphylococcus Aureus Arthritis by Vaccination with Clumping Factor A, a Novel Virulence Determinant" Immunology Letters, Amsterdam, NL, vol. 73, no. 2/3, September 2000 (2000-09), pages 153-154, XP009029019 ISSN: 0165-2478

D18: Josefsson E et al: "Protection against experimental Staphylococcus aureus arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant"

Journal of Infectious Diseases, Chicago, IL, US, vol. 184, no. 12, 15 December 2001 (2001-12-15), pages 1572-1580, XP009028976 ISSN: 0022-1899

D19: Casolini F et al: "Antibody response to fibronectin-binding adhesin FnbpA in patients with Staphylococcus aureus infections"

Infection And Immunity, American Society For Microbiology. Washington, US, vol. 66, no. 11, November 1998 (1998-11), pages 5433-5442, XP002222372 ISSN: 0019-9567

D20: Mamo W et al: "Vaccination With Staphylococcus Aureus Fibrinogen Binding Proteins (Fgbps) Reduces Colonisation of S. Aureus In A Mouse Mastitis Model"

Fems Immunology And Medical Microbiology, Elsevier Science B.V., Amsterdam, NL, vol. 10, no. 1, 1 November 1994 (1994-11-01), pages 47-54, XP000619735 ISSN: 0928-8244

D21: PARK HEE-MYUNG et al: "Immunogenicity of alpha-toxin, capsular polysaccharide (CPS) and recombinant fibronectin-binding protein (r-FnBP) of Staphylococcus aureus in rabbit"

Journal of Veterinary Medical Science, vol. 61, no. 9, September 1999

(1999-09), pages 995-1000, XP002293941 ISSN: 0916-7250

**D22: Fattom A et al: "Effect of conjugation methodology, carrier protein, and adjuvants on the immune response to Staphylococcus aureus capsular polysaccharides"**

**Vaccine, Butterworth Scientific. Guildford, GB, vol. 13, no. 14, 1 October 1995 (1995-10-01), pages 1288-1293, XP004057429 ISSN: 0264-410X**

**D23: WO 86/06635 A (Biotech Australia Pty Ltd) 20 November 1986 (1986-11-20)**

**D24: WO 00/71585 A (MEDAREX INC) 30 November 2000 (2000-11-30)**

**D25: Han Hong Ryul et al: "Determination of alpha-toxin antibodies against Staphylococcus aureus and phagocytic ability postimmunization in rabbits"**

**BOVINE PRACTITIONER, no. 32 PART 1, January 1998 (1998-01), pages 14-17, XP008034262 ISSN: 0524-1685 0524-1685**

Document **D1** discloses the peptide used in the conjugate is *P. aeruginosa* exoprotein A, and the polysaccharide either CP5 or CP8.

Document **D2** discloses mainly CP5, conjugated to the *P. aeruginosa* exotoxin A

Document **D3** describes a polysaccharide-protein conjugate vaccine consisting of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A and *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide types 5 and 8

Document **D4** describes a vaccine with *S. aureus* type 5 and 8 capsular polysaccharides conjugated to nontoxic recombinant *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A, and the antibody titers resulting from vaccination with this conjugate.

Document **D5** discloses conjugate vaccines, in which the polysaccharide is *staphylococcus aureus* type 5 capsular polysaccharide (CP5), and the protein *pseudomonas aeruginosa* recombinant exoprotein A. According to table 5, the protein also elicits an antibody response.

Document **D6** discloses an antigenic conjugate of a protein (transferrin binding protein) with capsular polysaccharides from meningococcus.

Document **D7** discloses the principle of conjugated vaccines: see page 33, line 24 to page 34, line 16. Such a conjugate vaccine is prepared in example 29 (TT and bacterial polysaccharide).

Document **D8** discloses antigenic conjugates containing a polysaccharide attached to a protein. According to example 4, an antigenic effect against the protein is also obtained.

Document **D9** discloses conjugate vaccines based on a different protein. The polysaccharides come from *Streptococcus pneumoniae* (claimed) and *Haemophilus influenzae b* (example 10).

Document **D10** discloses antigenic conjugates, in which an (oligo?)saccharide is conjugated to a protein.

Document **D11** discloses another conjugate vaccine: capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae*, and as Protein: TT or diphtheriae

Document **D12** discloses the polysaccharide is derived from *Escherichia coli* O157, and the protein is BSA, *Clostridium welchii* exotoxin C or *Pseudomonas aeruginosa* exoprotein A.

Document **D13** discloses vaccines, in which the capsular polysaccharide of *Neisseria meningitidis* is conjugated via adipic acid hydrazide to tetanus toxoid.

Document **D14** claims the same principle: antigens of the type protein and polysaccharide from one single microorganism are combined to form a vaccine. This time, the microorganism is a streptococcus.

Documents **D15** to **D17** describe the use of the carrier proteins as claimed as a vaccine.

Document **D18** discloses protection against experimental *Staphylococcus aureus* arthritis by vaccination (both passive and active immunisation) with clumping factor A.

Document **D19** discloses that, in spite of the antibodies, the affinity of *S. aureus* for fibronectin was not changed.

Document **D20** discloses that vaccination with *Staphylococcus aureus* fibrinogen binding proteins (FgBPs) reduces colonisation of *S. aureus* in a mouse mastitis model, as the title also indicates. The vaccine's preparation can be found at page 48.

Document **D21** discloses the use of the mixture of both components used in the presently claimed conjugate vaccine, for the same purpose of vaccination. As can be seen in e.g. figures 1 and 2, this mixture does indeed yield IgG specific for both the protein and the capsular polysaccharide.

Document **D22** discloses the effects of the choice of protein carrier and of the linkage of a conjugated vaccine, containing mainly CP8.

Summarising, conjugate vaccines in which CP5 or CP8 is conjugated to a bacterial protein to enhance its immunogenic properties are disclosed in **D1** to **D5** and **D22**. In documents **D6** to **D14**, the polysaccharide is of a different origin.

Although the presently claimed conjugate vaccines can be distinguished from this prior art by the choice of the protein part in the conjugate, they cannot be considered to involve an inventive step. Indeed, it is obvious for the skilled person to replace one carrier protein of bacterial origin by another protein of bacterial origin. Moreover, as is clear from **D21**, the antibodies against the protein part were expected to be elicited.

Therefore, the subject-matter of claims 1-26 does not seem to fulfil the requirements of

Article 33.3 PCT for inventive step.

This is even more so, since the carrier proteins presently claimed are known to be immunogenic: see any of documents D15 to D20. Thus, when departing from any of D1 to D5 or D22, the skilled person, who wants to solve the problem of providing vaccination against *Staphylococcus* spp., would certainly choose to replace the carrier protein by one of staphylococcal origin, thus arriving at the presently claimed invention number 1.

Moreover, D19 discloses, that, in spite of the antibodies, the affinity of *S. aureus* for fibronectin was not changed. Therefore, the fact that antibodies are indeed elicited, as is demonstrated by the examples of the present application, is not sufficient to induce active immunity, as mentioned in claims 25-26. Therefore, as this document casts a serious doubt on whether the problem underlying these claims is actually solved, the present Authority cannot acknowledge an inventive step in the sense of Article 33.3 PCT, either.

Finally, the present authority should point out, that the examples in the present application only allow to conclude, that the conjugates of CP5 or CP8 do indeed result in an antibody response. For conjugates of other polysaccharides, this remains to be demonstrated. Therefore, in the absence of data in support of this generalisation, the present authority cannot acknowledge an inventive step in the sense of Article 33.3 PCT over the full scope of what is claimed.

Turning to invention number 2, the following documents are of particular relevance.

Document D21 discloses the use of the mixture of both components used in the presently claimed conjugate vaccine, for the same purpose of vaccination. As can be seen in e.g. figures 1 and 2, this mixture does indeed yield IgG specific for both the protein and the capsular polysaccharide.

Document D24 discloses antibodies specific for the antigens described in the present application, thus falling under the definition of claims 28-31.

Document D25 discloses the use of a mixture for acquiring IgG. The passage at page 16, right-hand column mentions a significantly lower bacterial count after this vaccination.

The present application does not provide the skilled person with sufficient information to distinguish these antibodies or hyperimmune globulin from the one presently claimed. Therefore, the requirements of Article 33.2 PCT for novelty do not seem to be fulfilled.

For the assessment of the present claims 25, 26 and 29 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

**Re Item VIII.**

Present claims 1-18 and 24-27 relate to an extremely large number of possible conjugates, as well as to compositions containing such conjugates and their use. Support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT is to be found, however, for only a very small proportion of the conjugates claimed. In the present case, the claims lack support, and the application lacks sufficiency of disclosure.

Moreover, claims 1-18 and 24-27 do not meet the requirements of Article 6 PCT in that the matter for which protection is sought is not clearly defined. The claims attempt to define the subject-matter in terms of the result to be achieved, which merely amounts to a statement of the underlying problem, without providing the technical features necessary for achieving this result.

Present claims 27-31 relate to a hyperimmune globulin, its preparation, and its use in passive vaccination against a nosocomial infection. In the present application, however, only active immunisation using the corresponding antigen has been disclosed. Also, the applicant has not indicated by which technical features the presently claimed hyperimmune globulin can be distinguished from a hyperimmune globulin as produced by a mixture of the same antigens. Therefore, these claims do not meet the requirements of Article 6 PCT in that the matter for which protection is sought is not clearly defined. In addition, their subject-matter has not been sufficiently disclosed, contrary to the requirements of Article 5 PCT.

**CONJUGADOS DE POLISACÁRIDO-PROTEÍNA PORTADORA ADHESIVA  
SUPERFICIAL DE ESTAFILOCOCO PARA INMUNIZACIÓN CONTRA  
INFECCIONES NOSOCOMIALES**

5

**RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION**

Se describen los conjugados inmunogénicos de polisacárido-proteína que tienen un antígeno polisacárido (o su fragmento oligosacárido que representa uno o más epitopos  
10 antigénicos) derivado de un conjugado nosocomial conjugado a una proteína portadora adhesiva superficial de estafilococo, que se utilizan en composiciones inmunogénicas para producir respuestas de anticuerpo hacia el antígeno polisacárido y hacia la proteína portadora adhesiva superficial de  
15 estafilococo. Tales composiciones inmunogénicas son utilizadas para inmunizar contra enfermedades provocadas por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* u otros patógenos nosocomiales.

**CONJUGADOS DE P LISACARIDO-PROTEINA PORTADORA ADHESINA  
SUPERFICIAL DE ESTAFILOCOCO PARA INMUNIZACION CONTRA  
INFECCIONES NOSOCOMIALES**

5

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a un conjugado inmunogénico de polisacárido-proteína que comprende un antígeno polisacárido (o su fragmento oligosacárido que representa uno o más epitopos antigénicos) proveniente de un patógeno nosocomial y una proteína adhesina superficial de estafilococo. Esta invención también se refiere a las composiciones inmunogénicas que comprenden el conjugado polisacárido-proteína, y su uso.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 Cada año aproximadamente 2 millones de los 40 millones estimados de personas ingresados a los hospitales en los Estados Unidos desarrollarán una infección nosocomial (Anonymous 1997). Con una tasa de mortalidad de aproximadamente 4.4%, las infecciones nosocomiales contribuyen a 88,000 muertes al año. El costo de las infecciones adquiridas en hospital en los Estados Unidos ha sido estimado en 4,500 millones de dólares por año (Weinstein 1998). Estos estimados no incluyen las infecciones que ocurren en 31 millones de cirugías de paciente externo realizadas cada año (Sitio en la Red del National Center for

Health Statistics), los 1.5 millones de residentes domésticos con cuidado de enfermera, las instalaciones de cuidado extendidas, o entre aquellos que reciben procedimientos de cuidado ambulatorio.

5                    *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa-negativos (CONS), particularmente *S. epidermidis*, son patógenos nosocomiales Gram-positivos que son responsables de la mayoría de las infecciones nosocomiales. Las infecciones por Estafilococos representan casi 25% (aproximadamente  
10 500,000) de todas las infecciones nosocomiales (Haley, Culver et al. 1985) (Boyce 1997). Hasta 1% de todas las admisiones en algunos hospitales dan como resultado infecciones por *S. aureus* (Storch and Rajagopalan 1986). Los Estafilococos (*S. aureus* y *S. epidermidis*) representan aproximadamente 47% de  
15 las infecciones nosocomiales en la corriente sanguínea, 24% de las infecciones en el sitio de la cirugía (SSI), y 17% de la neumonía adquirida en hospital (Anonymous 1997). La mortalidad de los pacientes con infecciones nosocomiales por *S. aureus* y CONS varía considerablemente, en el intervalo de  
20 5% a 68% (Nada, Ichiyama et al. 1996); (Thylefors, Harbarth et al. 1998).

Las infecciones por estafilococos son diversas en alcance, yendo desde las infecciones cutáneas, tales como el impétigo, boils, infecciones en heridas e infecciones por  
25 dispositivos implantados, a infecciones severas que amenazan

la vida, tales como osteomielitis, endocarditis y bacteremia con complicaciones metastáticas. Esta diversidad hace al diseño de una composición inmunogénica eficaz contra los estafilococos, un reto verdadero. Un incremento agudo en la  
5 aparición de bacterias nosocomiales resistentes a fármacos, hace a tal diseño aún más difícil. *S. aureus* resistente a la meticilina provoca aproximadamente 40% de las muertes atribuidas a infecciones nosocomiales (Boyce 1997). El reciente surgimiento de *S. aureus* resistente al intermediario  
10 de vancomicina (VISA por sus siglas en inglés) ha incrementado aún más la preocupación respecto a su dispersión. De este modo, existe una necesidad fuerte y rápidamente creciente para una composición inmunogénica eficaz contra las infecciones nosocomiales.

#### 15 Polisacáridos Capsulares

El involucramiento de los polisacáridos capsulares (CP) en la virulencia de muchos patógenos bacterianos, incluyendo *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y estreptococos del grupo B, está bien establecido. Las  
20 bacterias encapsuladas son resistentes a la fagocitosis por leucocitos, y de este pueden infectar la sangre y los tejidos. Debido a que los anticuerpos para los polisacáridos capsulares neutralizan las propiedades anti-fagocíticas de la cápsula bacteriana (Karakawa, Sutton et al. 1988; Thakker,  
25 Park et al. 1998), la cápsula estafilocócica ha sido un

objetivo principal en el desarrollo de composiciones inmunogénicas para prevenir las infecciones estafilocócicas en humanos.

De los 12 serotipos capsulares conocidos de *S. aureus*, el serotipo 5 (CP5) y el serotipo 8 (CP8) representan aproximadamente 85-90% de todos los aislados clínicos (Arbeit, Karakawa et al. 1984; Karakawa, Fournier et al. 1985; Essawi, Na'was et al. 1998; Na'was, Hawwari et al. 1998). La mayoría de los aislados de *S. aureus* resistentes a la meticilina expresan CP5 (Sompolinsky, Samra et al. 1985). Los anticuerpos para CP5 y CP8 inducen muerte opsonofagocítica específica del tipo, por neutrófilos polimorfonucleares humanos *in vitro* y confieren protección en animales (Karakawa, Sutton et al. 1988; Fattom, Sarwar et al. 1996).

La mayoría de los polisacáridos capsulares bacterianos son inmunógenos pobres en animales y humanos. No obstante, si los polisacáridos purificados son conjugados a las moléculas portadoras de proteína, éstos adquieren inmunogenicidad y dependencia a las células T. Varios laboratorios han sintetizado conjugados inmunogénicos que consisten de CP5 y CP8 covalentemente enlazados a la proteína. Estos conjugados son altamente inmunogénicos en ratones y humanos e inducen los anticuerpos que opsonizan *S. aureus* microencapsulado para la fagocitosis (Fattom, Schneerson et al. 1993; Gilbert et al. 1994; Reynaud-Rondier et al. 1991). Las composiciones inmunogénicas monovalentes

que contienen CP5 conjugado a la exotoxina recombinante A de *Pseudomonas aeruginosa*, son inmunogénicas y bien toleradas en adultos saludables y en pacientes con enfermedad renal de etapa final (Welch et al. 1996). En una prueba de doble  
5 ciego que involucra pacientes con enfermedad renal de etapa final quienes estaban recibiendo hemodiálisis, una vacuna conjugada bivalente compuesta de CP5 y CP8 covalentemente enlazados a la exotoxina recombinante A de *Pseudomonas aeruginosa* confirieron inmunidad parcial contra la bacteremia  
10 por *S. aureus* por aproximadamente 40 semanas, después de lo cual la protección disminuyó conforme disminuían los niveles de anticuerpo (Shinefield et al. 2002). El resultado de esta prueba indica una necesidad para una composición inmunogénica mejorada que pudiera contribuir a la protección más completa.

15 Otro tipo más de polisacárido extracelular, denominado como polisacárido adhesina (PS/A; (Tojo, Yamashita et al. 1988)), poli-N-succinil- $\beta$ -1-6-glucosamina (PNSG; (McKenney, Pouliot et al. 1999)), polisacárido superficial de poli-N-acetilglucosamina (PNAG; (Maira-Litran, Kropec et al.  
20 2002)), o adhesina intercelular de polisacárido (PIA (Mack, Fischer et al. 1996)) es expresado por *S. aureus* y *S. epidermidis*. PIA o PS/A es un glucosaminoglucano lineal  $\beta$ -1,6-enlazado. La inmunización de ratones con PS/A (PNSG, PNAG) reduce la colonización de los riñones y protege a los  
25 ratones de la muerte después del reto con cepas de *S. aureus*

que produjeron poco PS/A (PNSG, PNAG) *in vitro* (McKenney, Pouliot et al. 1999). PIA juega un papel importante en la patogénesis de las infecciones intravasculares asociadas al catéter (Rupp, Ulphani et al. 1999; Rupp, Ulphani et al. 5 1999; Rupp y Fey 2002; Rupp, Fey et al. 2001). Además de promover la adhesión entre las células individuales de *S. epidermidis*, PIA se enlaza a los eritrocitos y actúa como una hemaglutinina (Fey, Ulphani et al. 1999).

#### **Adhesinas superficiales de estafilococos**

10 Los estafilococos expresan múltiples adhesinas superficiales (denominados componentes superficiales microbianos que reconocen moléculas de matriz adhesivas) que incluyen, por ejemplo, la proteína de enlace a la fibronectina, proteína de enlace al fibrinógeno, proteína de 15 enlace al colágeno y proteína de enlace a la vitronectina. Estas adhesinas reconocen específicamente y se enlazan a los componentes de la matriz extracelular (ECM por sus siglas en ingles), tales como, por ejemplo, fibronectina, fibrinógeno, colágeno y vitronectina. La redundancia y la pluralidad de 20 factores de adhesión expresados por *S. aureus* contribuyen a su patogenicidad al proporcionar métodos alternativos para la adherencia a, e infección de, una variedad de tejidos. Los anticuerpos para adhesinas de estafilococos pueden reducir la enfermedad al prevenir que las bacterias invadan los tejidos 25 hospederos de mamífero o al promover la opsonofagocitosis.

Las ratas inmunizadas con una porción de la proteína A que se enlaza a la fibronectina de *S. aureus* (proporcionada como una proteína de fusión) dotó a las ratas con un grado modesto de protección contra la endocarditis experimental. Una  
5 composición inmunogénica similar diseñada para producir anticuerpos para la proteína A de enlace a la fibronectina, fue probada en un modelo de ratón de mastitis por *S. aureus*. Los ratones inmunizados mostraron menos casos de mastitis severa que los ratones control y menos bacterias fueron  
10 recuperadas de las glándulas mamarias de ratones inmunizados que de los ratones control. Los ratones inmunizados con las proteínas de enlace al fibrinógeno de 19 y 87 kDa mostraron una incidencia reducida de mastitis en comparación con los controles no inmunizados, mientras que la inmunización con la  
15 proteína de enlace al colágeno no fue protectora (Lee, Pier 1997).

No obstante, a pesar de estos y otros esfuerzos para conjugar los antígenos polisacárido a una variedad de portadores proteicos, actualmente no existe composición  
20 inmunogénica eficaz para tratar o prevenir las infecciones nosocomiales.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona de este modo un conjugado inmunogénico de polisacárido-proteína que comprende  
25 al menos un antígeno polisacárido derivado de un patógeno

nosocomial, o un fragmento de oligosacárido que representa uno o más epitopos antigénicos de al menos un antígeno polisacárido (preparado sintéticamente o mediante hidrólisis del polisacárido nativo) conjugado al menos a una proteína portadora adhesina superficial de estafilococo. Los conjugados de esta invención son utilizados en composiciones inmunogénicas, que son útiles para producir en un sujeto, respuestas específicas de anticuerpo para el antígeno polisacárido del patógeno nosocomial y la proteína portadora de adhesina superficial. Como tales, estos conjugados pueden ser utilizados para inmunizar contra las infecciones nosocomiales provocadas por *S. aureus*, *S. epidermidis* u otros patógenos nosocomiales, y para la generación de inmunoglobulina para la inmunización pasiva para prevenir o reducir la severidad de las infecciones nosocomiales.

En un aspecto de la invención, se proporciona un conjugado inmunogénico de polisacárido-proteína que comprende al menos un antígeno polisacárido proveniente de un patógeno nosocomial conjugado al menos a una proteína portadora adhesina superficial de estafilococo, en donde el conjugado genera anticuerpos específicos para el antígeno polisacárido y para la proteína portadora adhesina superficial.

En otro aspecto más de la invención, se proporciona un conjugado inmunogénico de polisacárido-proteína que comprende un fragmento oligosacárido que representa uno o más

epitopos antigénicos de al menos un antígeno polisacárido proveniente de un patógeno nosocomial conjugado al menos a una proteína portadora adhesina superficial de estafilococos, en donde el conjugado genera anticuerpos específicos para el  
5 antígeno polisacárido y la proteína portadora adhesina superficial.

En otro aspecto más, se proporciona una composición inmunogénica que comprende el conjugado de antígeno polisacárido-proteína adhesina superficial, en asociación con  
10 un portador o diluyente adecuado. Las composiciones inmunogénicas de la invención pueden también comprender un adyuvante tal como, por ejemplo, hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio.

En otro aspecto más, se proporciona un método para  
15 inducir inmunidad activa contra las infecciones nosocomiales en un mamífero, cuyo método comprende administrarle al mamífero sujeto a tales infecciones, incluyendo un humano, una cantidad inmunogénica de una composición inmunogénica de la invención.

20 En otro aspecto más, se proporciona un método para preparar un agente inmunoterapéutico contra las infecciones nosocomiales, cuyo método comprende los pasos de inmunizar a un mamífero con la composición inmunogénica de la invención, la recolección del plasma del mamífero inmunizado, y cosechar  
25 del plasma recolectado una globulina hiperinmune que contiene

anticuerpos anti-polisacárido y anticuerpos anti-adhesina superficial. La globulina hiperinmune puede ser utilizada para inducir inmunidad pasiva a infecciones nosocomiales.

Los conjugados de la presente invención tienen la  
5 ventaja distinta de producir anticuerpos para el antígeno polisacárido y la proteína portadora adhesina superficial (ambos de los cuales son factores de virulencia), y confiriendo inmunidad hacia las enfermedades provocadas por patógenos nosocomiales. Es decir, la proteína adhesina  
10 superficial misma puede conferir inmunidad y no meramente actuar como una proteína portadora para el antígeno polisacárido.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra una composición de CP5 y CP8 de  
15 *S. aureus* como es determinada por GLC y análisis de HPAEC-PAD.

La Figura 2 muestra el análisis de RMN <sup>1</sup>H de CP5 y CP8 de *S. aureus*, des-O-acetilados.

La Figura 3 es una representación esquemática del  
20 factor de aglomeración proveniente de *S. aureus*-ClfA.

La Figura 4 es una representación esquemática de las proteínas recombinantes Clf40 y Clf41 derivadas de *S. aureus* ClfA.

La Figura 5 es una representación esquemática del  
25 factor de aglomeración de *S. epidermidis*-SdrG.

La Figura 6 es una representación esquemática de las proteínas recombinantes derivadas de *S. epidermidis* SdrG: SdrG (N1N2N3) y SdrG (N2N3).

La Figura 7 muestra la bromoacetilación de una  
5 proteína adhesina superficial.

La Figura 8 muestra la activación de CP de *S. aureus* con 3-(2-piridilditio)propionilhidrazida (PDPH).

La Figura 9 muestra la conjugación de CP de *S. aureus* tiolado, a una proteína adhesina superficial.

10 La Figura 10 muestra el análisis de los conjugados CP5- y CP8-SdrG (N1N2N3) y CP5- y CP8-Clf41(N2N3) para la antigenicidad con antisueros de conejo específico para CP.

La Figura 11 muestra el análisis de los conjugados CP5- y CP8-Clf41(N2N3) para la antigenicidad con antisueros  
15 de conejo específicos de ClfA.

La Figura 12 muestra el análisis de los conjugados CP5- y CP8-SdrG (N2N3) 6xHis y CP5- y CP8-Clf40 (N1N2N3) 6xHis para la antigenicidad por el ensayo de inmunodifusión doble.

20 La Figura 13 muestra el análisis de los conjugados CP5 y CP8-SdrG (N2N3) y CP5- y CP8-FnbA para la antigenicidad por el ensayo de inmunodifusión de Ouchterlony.

La Figura 14 muestra el análisis de los conjugados mediante transferencia por puntos.

25 Las Figuras 15A-H muestran la respuesta inmune de

CP8 de *S. aureus* conjugado a SdrG (N1N2N3), SdrG (N2N3), Clf40 (N1N2N3) y Clf42 (N2N3).

Las Figuras 16A-H muestran la respuesta inmune de CP5 de *S. aureus* conjugado a SdrG (N1N2N3), SdrG (N2N3),  
5 Clf40 (N1N2N3) y Clf41 (N2N3).

Las Figuras 17A-F muestran la respuesta inmune a *S. aureus* ClfA conjugado y no conjugado (N1N2N3) con y sin adyuvante.

Las Figuras 18A-F muestran la respuesta inmune a *S. aureus* ClfA conjugado y no conjugado (N2N3) con y sin  
10 adyuvante.

Las Figuras 19A-F muestran la respuesta inmune a *S. epidermidis* SdrG conjugado y no conjugado (N1N2N3) con y sin adyuvante.

Las Figuras 20A-F muestran la respuesta inmune a *S. epidermidis* SdrG conjugado y no conjugado (N2N3) con y sin  
15 adyuvante.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Las infecciones nosocomiales involucran múltiples  
20 factores de virulencia. De este modo, es altamente probable que una combinación de determinantes de virulencia incluidos como componentes en las composiciones inmunogénicas pudieran incrementar la protección en comparación con una composición inmunogénica que contiene únicamente un determinante de  
25 virulencia simple. Los antígenos polisacáridos de la

presente invención son derivados de diversos microorganismos patógenos nosocomiales que incluyen, pero no están limitados a, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y otros estafilococos coagulasa-negativos (CONS), *Enterococcus* spp.,  
5 *Candida albicans*, *Enterobacter* spp., *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estos antígenos son factores de virulencia en infecciones sistémicas y son inmunógenos pobres. Su inmunogenicidad puede ser mejorada por conjugación a una  
10 proteína portadora. Para el propósito de la presente invención, las proteínas adhesinas superficiales son componentes de la superficie microbiana que reconocen las moléculas de matriz adhesivas. Éstas son adecuadamente disponibles bajo la marca comercial MSCRAMM® de Inhibitex  
15 Inc. Apharetta, GA, EUA. Como se describe más adelante, utilizando una proteína adhesina superficial de estafilococos como una proteína portadora para los antígenos polisacáridos, convierte el polisacárido a un antígeno dependiente de células T, induciendo de este modo una respuesta de IgG anti-  
20 polisacárido. Además, el conjugado induce los anticuerpos anti-proteína portadora adhesina superficial que protege contra la infección y ayuda a prevenir la adherencia bacteriana a los tejidos hospederos de mamífero. Aunque se ha sabido que las reacciones químicas de los métodos de  
25 conjugación proteína-sacárido pueden tener un efecto dañino

sobre los epitopos inmunogénicos de las proteínas portadoras, sorprendentemente en la presente invención, no es observado tal efecto, y la proteína permanece capaz de promover respuestas contra los epitopos protectores.

5 Las proteínas adhesinas superficiales sobre la superficie celular bacteriana y los ligandos dentro del tejido del hospedero, interactúan de una manera segura y clave dando como resultado la adherencia de las bacterias al hospedero. La adhesión es frecuentemente requerida para la supervivencia bacteriana y ayuda a las bacterias a evadir los  
10 mecanismos de defensa del hospedero y los retos con antibiótico. Una vez que las bacterias se han adherido exitosamente a y colonizado los tejidos del hospedero, su fisiología es dramáticamente alterada, y son secretados  
15 componentes dañinos tales como toxinas y enzimas. Además, las bacterias adherentes frecuentemente producen una biopelícula y rápidamente se vuelven resistentes al efecto mortal de la mayoría de los antibióticos.

Los ejemplos representativos de proteínas adhesinas  
20 superficiales incluyen proteína de enlace a la fibronectina, proteína de enlace al fibrinógeno, proteína de enlace al colágeno y proteína de enlace a la vitronectina. Estas adhesinas reconocen específicamente y se enlazan a los componentes de matriz extracelular fibrinógeno, fibronectina,  
25 colágeno y vitronectina.

### Proteína de Enlace a la Fibronectina

La fibronectina (Fn) es una glucoproteína de 440 kDa encontrada en el ECM y en los fluidos corporales de los animales. La función biológica principal de la fibronectina parece estar relacionada a su habilidad para servir como un sustrato para la adhesión de las células que expresan las integrinas apropiadas. Diversas especies bacterianas han mostrado que se enlazan a la fibronectina específicamente y se adhieren a un sustrato que contiene fibronectina. La mayoría de los aislados de *S. aureus* se enlazan a Fn, pero lo hacen así en grados variantes, lo cual refleja variaciones en el número de moléculas adhesinas superficiales expresadas sobre la superficie celular bacteriana. La interacción entre Fn y *S. aureus* es altamente específica (Kusela 1978). El enlace de Fn es mediado por dos proteínas expuestas a la superficie con pesos moleculares de 110 kDa, llamadas FnBP-A y FnBP-B. El sitio de enlace a Fn primario consiste de una porción de 35 a 40 aminoácidos, repetidos tres a cinco veces. Los genes para éstos han sido clonados y secuenciados (Jonson 1991).

El documento WO-A-85/05553 describe las proteínas de superficie celular bacteriana que tienen habilidad de enlace a la fibronectina, al fibrinógeno, al colágeno y/o a la laminina.

Las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,320,851 y 5,571,514 a Hook et al., describen la secuencia del gen de la proteína A de enlace a la fibronectina (fnbA), y los productos y métodos basados en esta secuencia.

La Patente de los Estados Unidos No. 5,175,096 a Hook et al., describe la secuencia del gen de *fnbB*, una molécula de ADN híbrida (*fnbB*) y los productos y métodos biológicos basados en esta secuencia.

5           La Patente de los Estados Unidos No. 5,652,217 describe una proteína aislada y purificada que tiene actividad de enlace, que es codificada por una molécula de ADN híbrida proveniente de *S. aureus* de la secuencia definida.

10           La Patente de los Estados Unidos No. 5,440,014 describe un péptido de enlace a la fibronectina dentro de la unidad de homología de D3 de una proteína de enlace a la fibronectina de *S. aureus*, que puede ser utilizada para la inmunización de rumiantes contra la mastitis provocada por  
15 infecciones estafilocócicas, para el tratamiento de heridas, para bloquear receptores de proteínas, para la inmunización de otros animales, o para el uso en un ensayo de diagnóstico.

La Patente de los Estados Unidos No. 5,189,015  
20 describe un método para el tratamiento profiláctico de la colonización de una cepa bacteriana de *S. aureus* que tiene la habilidad para enlazarse a la fibronectina en un mamífero que incluye administrarle al mamífero en necesidad del tratamiento una cantidad profilácticamente efectiva de una  
25 proteína que tiene propiedades de enlace a la fibronectina,

para prevenir la generación de infecciones provocadas por una cepa bacteriana de *S. aureus* que tiene la habilidad para enlazarse a la fibronectina, en donde la proteína tiene un peso molecular de 87 kDa a 165 kDa.

5                   La Patente de los Estados Unidos No. 5,416,021 describe un ADN que codifica para la proteína de enlace a la fibronectina, proveniente de *Streptococcus dysgalactiae*, junto con un plásmido que incluye el ADN que codifica para la proteína de enlace a la fibronectina proveniente de *S.*  
10 *dysgalactiae* contenido en *E. coli*, el ADN que codifica para una proteína de enlace a la fibronectina proveniente de *S. dysgalactiae* y un microorganismo *E. coli* transformado por el ADN que codifica para una proteína de enlace a la fibronectina proveniente de *S. dysgalactiae*.

15 Proteína de Enlace al Colágeno

El colágeno es el constituyente principal del cartílago. Las proteínas de enlace al colágeno (Cn) son comúnmente expresadas por cepas de estafilococos. La proteína adhesina superficial que se enlaza al colágeno de *S.*  
20 *aureus*, se adhiere al cartílago en un proceso que constituye una parte importante del mecanismo patogénico en infecciones por estafilococo (Switalski 1993). Se encuentra que el enlace al colágeno por *S. aureus* juega un papel en al menos, pero no solamente, la artritis y la septicemia. Las  
25 adhesinas de colágeno (CNAs) con pesos moleculares de 133,

110 y 87 kDa (Patti, J., et al. 1992) han sido identificadas. Las cepas que expresan CNAs con diferentes pesos moleculares no difieren en su habilidad de enlace al colágeno (Switalski 1993).

5 Las cepas de estafilococos recuperadas de las articulaciones de pacientes diagnosticados con artritis séptica u osteomielitis casi invariablemente expresan una proteína de enlace al colágeno, mientras que significativamente menos aislados obtenidos de infecciones de  
10 heridas expresan esta adhesina (Switalski et al. 1993). Similarmente, las cepas de *S. aureus* aisladas de los huesos de pacientes con osteomielitis frecuentemente tiene una proteína adhesina superficial que reconoce la proteína específica del hueso, la sialoproteína ósea (BSP por sus  
15 siglas en ingles) (Ryden et al. 1987). La colonización por *S. aureus* del cartílago articular dentro del espacio de la articulación parece ser un factor importante que contribuye al desarrollo de la artritis séptica.

El documento WO 92/07002 describe una molécula de  
20 ADN híbrido que incluye una secuencia de nucleótidos proveniente de *S. aureus*, que codifica para una proteína o polipéptido que tiene actividad de enlace al colágeno y un plásmido o fago que comprende la secuencia nucleotídica.

También se describe una cepa de *E. coli* que expresa  
25 la proteína de enlace al colágeno, un microorganismo

transformado por el ADN recombinante, el método para producir una proteína o polipéptido de enlace al colágeno, y la secuencia proteica de la proteína o polipéptido de enlace al colágeno.

5                   La clonación, secuenciamiento y expresión de un gen *cna*, que codifica para una proteína de enlace al colágeno de *S. aureus*, han sido reportados (Patti, J., et al. 1992).

                  El gen *cna* codifica para una adhesina de 133 kDa que contiene rasgos estructurales característicos de las  
10 proteínas superficiales aisladas de bacterias Gram-positivas.

                  Recientemente, el sitio de enlace al ligando ha sido localizado dentro de la mitad N-terminal de la proteína de enlace al colágeno (Patti, J. et al. 1993). Al analizar la actividad de enlace al colágeno de las proteínas  
15 recombinantes correspondientes a diferentes segmentos de la proteína adhesina superficial, un fragmento proteico de 168 aminoácidos de longitud (correspondiente a los residuos de aminoácidos 151-318) que tenían actividad apreciable de enlace al colágeno, fue identificado. Truncamientos cortos  
20 de esta proteína en el extremo N o C dieron como resultado una pérdida de actividad de enlace al ligando pero también dieron como resultado cambios conformacionales en la proteína como es indicado por la espectroscopia de dicroísmo circular.

                  Patti et al. (1995) describe un epítopo de enlace  
25 al colágeno en la adhesina de *S. aureus* codificada por el gen

cna. En su estudio, los autores sintetizaron péptidos derivados de la secuencia de dicha proteína, y los utilizaron para producir anticuerpos. Algunos de estos anticuerpos inhiben el enlace de la proteína al colágeno.

5 El documento WO97/43314 describe que ciertos epitopos identificados de la proteína de enlace al colágeno (M55, M33 y M17) pueden ser utilizados para generar anticuerpos protectores.

La solicitud también describe la estructura  
10 cristalina de la proteína de enlace al colágeno que proporcionan información crítica necesaria para identificar las composiciones que interfieren con, o bloquean completamente, el enlace del colágeno a la proteína de *S. aureus* de enlace al colágeno. El sitio de enlace al ligando  
15 en la proteína de *S. aureus* que se enlaza al colágeno, y un péptido de 25 aminoácidos, fue caracterizado porque inhibe directamente el enlace de *S. aureus* al colágeno tipo II marcado con 125I.

#### Proteína de Enlace al Fibrinógeno

20 La fibrina es un componente principal de los coágulos sanguíneos, y el fibrinógeno/fibrina es una de las proteínas plasmáticas mayores depositadas sobre biomateriales implantados. Existe evidencia considerable que sugiere que la adherencia bacteriana al fibrinógeno/fibrina es importante  
25 en el inicio de la infección relacionada al dispositivo. Por

ejemplo, como es mostrado por Vaudaux et al. (1989), *S. aureus* se adhiere al plástico *in vitro* que ha sido recubierto con fibrinógeno, de una manera dependiente de la dosis. Además, en un modelo que imita un coágulo sanguíneo o el daño a una válvula cardíaca, Hermann et al. (1993) demostraron que *S. aureus* se enlaza ávidamente vía un puente de fibrinógeno a las plaquetas que se adhieren a las superficies. *S. aureus* puede adherirse directamente al fibrinógeno en coágulos sanguíneos formados *in vitro*, y puede adherirse a células endoteliales cultivadas vía el fibrinógeno depositado a partir del plasma que actúa como un puente (Moreillon et al. 1995; Cheung et al. 1991). Como se muestra por Vaudaux et al. y Moreillon et al., los mutantes defectuosos en el factor de aglomeración de proteína que se enlaza al fibrinógeno (ClfA) muestran adherencia reducida al fibrinógeno *in vitro*, a los catéteres explantados, a los coágulos sanguíneos, y a las válvulas cardíacas dañadas en el modelo de rata para endocarditis (Vaudaux et al. 1995; Moreillon et al. 1995).

Una adhesina para el fibrinógeno, frecuentemente denominada como "factor de aglomeración", está localizado sobre la superficie de las células de *S. aureus*. La interacción entre las bacterias y fibrinógeno en solución da como resultado la aglomeración instantánea de las células bacterianas. El sitio de enlace sobre el fibrinógeno está localizado sobre el extremo C de la cadena gamma de la

glucoproteína de fibrinógeno dimérico. La afinidad es muy alta y la aglomeración ocurre en concentraciones bajas de fibrinógeno. Los científicos han mostrado recientemente que el factor de aglomeración también promueve la adherencia al  
5 fibrinógeno en fase sólida, a los coágulos sanguíneos, y a las válvulas cardíacas dañadas (McDevitt et al. 1994; Vaudaux et al. 1995; Moreillon et al. 1995).

Dos genes en *S. aureus* han sido encontrados, los cuales codifican para dos proteínas que se enlazan al  
10 fibrinógeno, ClfA y ClfB. El gen, *clfA*, fue clonado y secuenciado, y se encontró que codifica para un polipéptido de 92 kDa. ClfA se enlaza a la cadena gamma del fibrinógeno, y ClfB se enlaza a las cadenas alfa y beta (Eidhin, et al. 1998). ClfB es una proteína asociada a la pared celular con  
15 un peso molecular predicho de 88 kDa y un peso molecular aparente de 124 kDa que se enlaza al fibrinógeno soluble e inmovilizado, y actúa como un factor de aglomeración.

El gen para una proteína del factor de aglomeración, designado ClfA, fue clonado, secuenciado y  
20 analizado con detalle al nivel molecular (McDevitt et al. 1994; McDevitt et al. 1995). La proteína predicha está compuesta de 933 aminoácidos. Una secuencia de señal de 39 residuos aparece en el extremo N, seguida por una región de 520 residuos (región A), la cual contiene el dominio de  
25 enlace al fibrinógeno. Una región de 308 residuos (región

R), compuesta de 154 repeticiones del dipéptido serina-aspartato, sigue. La secuencia de la región R es codificada por la repetición de 18 pares de bases GAY TCN GAY TCN GAY AGY en la cual Y representa pirimidinas y N representa cualquier base. El extremo C de ClfA tiene características presentes en muchas proteínas superficiales de bacterias gram-positivas, tales como una porción LPDTG, que es responsable del anclaje de la proteína a la pared celular, un ancla membranal, y los residuos cargados positivamente en el extremo C.

La integrina alfa  $\text{Ib}\beta 3$  de plaquetas reconoce el extremo C de la cadena gamma del fibrinógeno. Este es un evento crucial en el inicio de la coagulación sanguínea durante la coagulación. ClfA y alfa  $\text{Ib}\beta 3$  parecen reconocer precisamente los mismos sitios sobre la cadena gamma de fibrinógeno debido a que ClfA puede bloquear la agregación plaquetaria, y un péptido correspondiente al extremo C de la cadena gamma (198-411) puede bloquear la integrina y ClfA que interactúan con el fibrinógeno (McDevitt et al. 1997). El sitio de enlace al fibrinógeno o alfa  $\text{Ib}\beta 3$  es cercano a, o se traslapa a un determinante de enlace a  $\text{Ca}^{2+}$  denominado como una "mano EF". La región A de ClfA lleva varias porciones similares a la mano EF. Una concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en el intervalo de 3 a 5 mM bloquea estas interacciones ClfA-fibrinógeno y cambia la estructura secundaria de la proteína

ClfA. Las mutaciones que afectan la mano EF de ClfA reducen o previenen interacciones con el fibrinógeno.  $\text{Ca}^{2+}$  y la cadena gamma de fibrinógeno parecen enlazarse a los mismos, o a sitios traslapados en la región A de ClfA.

5           La cadena alfa de la integrina leucocitaria, alfa  $\text{M}\beta 2$ , tiene una inserción de 200 aminoácidos (dominio A o I) que es responsable de las actividades de enlace al ligando. Una nueva porción de sitio de adhesión dependiente de ion metálico (MIDAS por sus siglas en ingles) en el dominio I es  
10 requerido para el enlace al ligando. Entre los ligandos reconocidos está el fibrinógeno. El sitio de enlace sobre el fibrinógeno está en la cadena gamma (residuos 190-202). Se reportó recientemente que *Candida albicans* tiene una proteína superficial, alfa Intlp, que tiene propiedades reminiscentes  
15 de las integrinas eucarióticas. La proteína superficial tiene homología de la secuencia de aminoácidos con el dominio I de  $\text{M}\beta 2$ , incluyendo la porción MIDAS. Además, Intlp se enlaza al fibrinógeno.

La región A de ClfA también muestra algún grado de  
20 homología secuencial con alfa Intlp. El examen de la secuencia de la región A de ClfA ha revelado una porción MIDAS potencial. Las mutaciones en los residuos de coordinación catiónica putativos en la porción DxSxS de la porción MIDAS en ClfA, da como resultado una reducción  
25 significativa en el enlace al fibrinógeno. Un péptido

correspondiente al sitio de enlace de la cadena gamma para alfa M $\beta$ 2 (190-202) ha sido mostrado por O'Connell et al., el cual inhibe las interacciones ClfA-fibrinógeno (O'Connell 1998). De este modo, parece que ClfA puede enlazarse a la  
5 cadena gamma de fibrinógeno en dos sitios separados. Los sitios de enlace al ligando sobre ClfA son similares a aquellos empleados por integrinas eucarióticas e involucran porciones de mano EF y MIDAS que se enlazan a cationes divalentes.

10 También conocida es la proteína de enlace al fibrinógeno, ClfB, la cual tiene un peso molecular predicho de aproximadamente 88 kDa y un peso molecular aparente de aproximadamente 124 kDa. ClfB es una proteína asociada a la pared celular y se enlaza al fibrinógeno soluble e  
15 inmovilizado. Además, ClfB se enlaza a las cadenas alfa y beta del fibrinógeno, y actúa como un factor de aglomeración.

Las proteínas relacionadas a ClfA y ClfB que se enlazan al fibrinógeno han sido encontradas, las cuales se enlazan a la matriz extracelular. Las proteínas SdrC, SdrD y  
20 SdrE están relacionadas en la secuencia primaria y en organización estructural a las proteínas ClfA y ClfB, y también están localizadas sobre la superficie celular. Con la región A de estas proteínas localizadas sobre la superficie celular, las proteínas pueden interactuar con las  
25 proteínas en el plasma, la matriz extracelular o con las

moléculas sobre la superficie de las células hospederas. SdrC puede enlazarse a las proteínas de la matriz extracelular, tales como, por ejemplo, vitronectina. SdrE también se enlaza a la matriz extracelular; por ejemplo, SdrE  
5 se enlaza a la sialoproteína ósea (BSP).

Se ha descubierto que en la región A de SdrC, SdrD, SdrE, ClfA y ClfB existe la secuencia de aminoácidos altamente conservada que puede ser utilizada para derivar una porción TYTFTDYVD de consenso. La porción puede ser  
10 utilizada en vacunas de componentes múltiples para impartir inmunidad de amplio espectro a las infecciones bacterianas, y también puede ser utilizada para producir anticuerpos monoclonales o policlonales que imparten inmunidad pasiva de amplio espectro. En una modalidad alternativa, cualquier  
15 combinación de la porción de la secuencia variable derivada de las familias de proteína Sdr y Clf, (T/I) (Y/F) (T/V) (F) (T) (D/N) (Y) (V) (D/N), pueden ser utilizadas para impartir inmunidad o para inducir anticuerpos protectores.

#### Proteínas Análogas de MHC-II

20 Además del fibrinógeno, la fibronectina y el colágeno, las cepas de *S. aureus* se asocian con otras proteínas eucarióticas adhesivas, muchas de las cuales pertenecen a la familia de proteínas de matriz adhesivas, tales como vitronectina (Chatwal et al. 1987). La Patente de  
25 los Estados Unidos No. 5,648,240 describe un segmento de ADN

que comprende un gen que codifica para la adhesina de amplio espectro de *S. aureus*, que tiene un peso molecular de aproximadamente 70 kDa. La adhesina es capaz de enlazarse a la fibronectina o la vitronectina e incluye una unidad que  
5 imita a MHC II de aproximadamente 30 aminoácidos. Los análisis adicionales de las especificidades de enlace de esta proteína revelan que ésta se asemeja funcionalmente a un antígeno MHC II ya que se enlaza a los péptidos sintéticos. De este modo, además de mediar la adhesión bacteriana a las  
10 proteínas de matriz extracelular, ésta puede jugar un papel en las infecciones por estafilococos al suprimir el sistema inmune del hospedero.

#### Proteínas Sdr de *Staphylococcus epidermidis*

*Staphylococcus epidermidis*, una bacteria coagulasa-  
15 negativa, es un habitante común de la piel humana y una causa frecuente de infecciones por cuerpos extraños. La patogénesis es facilitada por la habilidad del organismo para adherirse primeramente a, y subsecuentemente formar biopelículas sobre, los dispositivos médicos internos tales como válvulas  
20 artificiales, dispositivos ortopédicos, y catéteres de diálisis intravenosos y peritoneales. Las infecciones relacionadas a dispositivos pueden poner en peligro el éxito del tratamiento médico e incrementan significativamente la mortalidad del paciente. En consecuencia, la habilidad para  
25 desarrollar vacunas que pueden controlar o prevenir los

---

brotes de infección por *S. epidermidis* es de gran importancia, como lo es el desarrollo de vacunas conjugadas que pueden prevenir o tratar la infección a partir de un amplio espectro de bacterias, incluyendo las bacterias  
5 coagulasa-positivas y coagulasa-negativas al mismo tiempo.

Tres proteínas Sder (región de repetición de serina-aspartato (SD)) que son expresadas por *S. epidermidis* han sido designadas como SdrF, SdrG y SdrH, y las secuencias de aminoácidos de estas proteínas y sus secuencias de ácido  
10 nucleico son mostradas en WO 00/12131, que es incorporada por referencia en la presente.

De acuerdo con la presente invención, un conjugado útil como una composición inmunogénica es proporcionado, el cual incluye al menos un antígeno polisacárido conjugado al  
15 menos a una de las proteínas adhesinas superficiales descritas anteriormente. Además, los anticuerpos para el antígeno polisacárido y la proteína adhesina superficial son producidos utilizando medios convencionales. Como tales, las composiciones inmunogénicas que incluyen una proteína  
20 adhesina superficial, tal como SdrG, son utilizadas para tratar un amplio espectro de infecciones bacterianas, incluyendo aquellas que surgen de las bacterias coagulasa-positivas y coagulasa-negativas.

El otro componente de los conjugados de esta  
25 invención comprende al menos un antígeno polisacárido

---

derivado de un patógeno nosocomial. Tales patógenos nosocomiales incluyen, pero no están limitados a, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y otros estafilococos coagulasa-negativos (CONS), *Enterococcus* spp.,  
5 *Candida albicans*, *Enterobacter* spp., *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, y *Pseudomonas aeruginosa*.

En una modalidad de esta invención, el antígeno polisacárido comprende al menos uno de CP5 y CP8 de *S.*  
10 *aureus*.

En otra modalidad más de esta invención, el antígeno polisacárido comprende al menos uno de PS/A, PNSG, PNAG y PIA, como es expresado por *S. aureus* y/o *S. epidermidis*.

#### 15 Preparación y Uso de Composiciones Inmunogénicas

Las composiciones inmunogénicas son preparadas a partir de los conjugados antígeno polisacárido-proteína adhesina superficial, como se describe en la presente. Las composiciones inmunogénicas provocan una respuesta inmune que  
20 produce anticuerpos para el antígeno polisacárido y para la proteína portadora adhesina superficial.

Las composiciones inmunogénicas son también preparadas a partir de los conjugados de antígeno polisacárido-proteína adhesina superficial como se describe  
25 en la presente. Las composiciones inmunogénicas promueven

---

una respuesta inmune que produce anticuerpos para el antígeno polisacárido y la proteína portadora adhesina superficial.

Los conjugados proporcionados en la presente que son adecuados para el uso como composiciones inmunogénicas  
5 incluyen, pero no están limitados a:

(i) CP5 conjugado a la proteína de enlace al fibrinógeno o el péptido de *S. aureus*, tal como el Factor A de Aglomeración (ClfA), o un fragmento útil del mismo, o una proteína o fragmento con homología suficientemente alta a  
10 ésta; o

(ii) CP8 conjugado a la proteína o péptido de enlace al fibrinógeno de *S. aureus* tal como el Factor A de Aglomeración (ClfA), o útil del mismo, o una proteína o fragmento con homología suficientemente alta a ésta; o

15 (iii) PIA conjugado a la proteína o péptido de enlace al fibrinógeno de *S. aureus* tal como el Factor A de Aglomeración (ClfA), o útil del mismo, o una proteína o fragmento con homología suficientemente alta a ésta; o

(iv) CP5 conjugado a la proteína o péptido de  
20 enlace al fibrinógeno de *S. epidermidis* tal como SdrG o un fragmento útil del mismo, o una proteína o fragmento con homología suficientemente alta a éste; o

(v) CP8 conjugado a la proteína o péptido de  
25 enlace al fibrinógeno de *S. epidermidis* tal como SdrG o un fragmento útil del mismo, o una proteína o fragmento con

homología suficientemente alta a éste; o

(vi) PIA conjugado a la proteína o péptido de enlace al fibrinógeno de *S. epidermidis* tal como SdrG o un fragmento útil del mismo, o una proteína o fragmento con  
5 homología suficientemente alta a éste.

En cada caso, una composición inmunogénica creada a partir de cualquiera de los conjugados (i) al (vi) es útil para inmunizar a un paciente contra la infección por bacterias coagulasa-positivas tales como *S. aureus*, así como  
10 bacterias coagulasa-negativas tales como *S. epidermidis*.

Además de los conjugados (i) al (vi) descritos anteriormente, en donde la proteína portadora adhesina superficial es una proteína de enlace al fibrinógeno, la presente invención también contempla los conjugados en donde  
15 la proteína portadora adhesina superficial es cualquier proteína adhesina superficial de estafilococo, tal como, por ejemplo la proteína de enlace al fibrinógeno, la proteína de enlace al colágeno y la proteína de enlace a la vitronectina. La presente invención también contempla que el antígeno  
20 polisacárido pueda ser PS/A, PNAG o PNSG, u otros antígenos polisacáridos provenientes de microorganismos patógenos nosocomiales, tales como *S. aureus*, *S. epidermidis* y otros CoNS, *Enterococcus* spp., *Candida albicans*, *Enterobacter* spp., *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia*  
25 *coli*, y *Pseudomonas aeruginosa*.

Son conocidos muchos métodos en la técnica para conjugar un polisacárido a una proteína, y son adecuados para el uso en la presente. En general, el polisacárido debe ser activado o de otro modo hecho disponible para la conjugación, por ejemplo, al menos una porción debe ser hecha capaz de enlazarse covalentemente a una proteína u otra molécula. Muchos de tales métodos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 4,356,170, expedida a Jennings, describe el uso de ácido peryódico para generar grupos aldehído sobre el polisacárido y luego realiza la aminación reductiva utilizando cianoborohidruro. La Patente de los Estados Unidos No. 4,663,160, expedida a Tsay et al., también utilizó el ácido peryódico para generar grupos aldehído, pero luego enlazaron el polisacárido a una proteína derivatizada con una porción de 4 a 12 átomos de carbono (preparada en presencia de un agente de condensación) con una reacción de base de Schiff en presencia de un agente reductor tal como el cianoborohidruro. La Patente de los Estados Unidos No. 4,619,828, expedida a Gordon, utilizó bromuro de cianógeno para activar el polisacárido y luego lo conjugó a través de un puente espaciador de 4 a 8 átomos de carbono a la proteína. Otros métodos adicionales de conjugación son conocidos en la técnica.

En una modalidad de la presente invención, el CP es activado con el ligador 3-(2-piridilditio)-propionilhidrazida

(PDPH), con lo cual los grupos carboxilato activados con carbodiimida del ácido N-acetilmannosaminourónico en el CP, son acoplados al grupo hidrazida de PDPH (Figura 8). La proteína portadora MSCRAMM es activada mediante  
5 bromoacetilación de los residuos de lisina con el éster de N-hidroxisuccimida del ácido bromoacético (Figura 7). El CP PDPH-tiolado es luego conjugado a la proteína adhesina superficial activada mediante desplazamiento del bromo en la proteína bromoacetilada con tiol, dando como resultado un  
10 enlace tioéter estable (Figura 9):

CP-CONHNHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>2</sub>CONH - proteína adhesina superficial

Las composiciones inmunogénicas que comprenden los conjugados CP-proteína adhesina superficial de la invención, fueron probadas en ratones, y se mostró que poseen  
15 propiedades inmunogénicas mejoradas en comparación con el CP no conjugado, pobremente inmunogénico (Figuras 15-20). Además, los anticuerpos específicos del polisacárido capsular y los anticuerpos específicos de ClfA y SdrG inducidos por la composición inmunogénica del conjugado CP-adhesina  
20 superficial mostraron que se enlazan a las cepas vivas que expresan los antígenos correspondientes (Tablas 5 y 6). A la luz de estos resultados, se cree que las composiciones inmunogénicas de la invención serán útiles contra infecciones nosocomiales provocadas por patógenos tales como *S. aureus* o  
25 *S. epidermidis*. Y cuando los anticuerpos inducidos por los

conjugados CP-adhesina superficial se administran como composiciones inmunogénicas a una herida o se utilizan para recubrir dispositivos médicos o biomateriales poliméricos in vitro o in vivo, las composiciones prevendrán o inhibirán el  
5 enlace de las bacterias estafilocócicas al sitio de la herida o los biomateriales. Los conjugados que han sido procesados de acuerdo con esta invención son utilizados en la preparación de las composiciones inmunogénicas para conferir protección de un sujeto contra las infecciones nosocomiales.  
10 Un "sujeto" como se utiliza en la presente, es un mamífero de sangre caliente e incluye, por ejemplo, humanos, primates, caballos, vacas, perros y gatos.

Los conjugados pueden ser agregados a diluyentes o portadores inmunológicamente aceptables, de la manera  
15 convencional para preparar soluciones o suspensiones líquidas inyectables.

Las composiciones inmunogénicas de la presente invención son típicamente formadas mediante la dispersión del conjugado en cualquier portador farmacéuticamente aceptable,  
20 adecuado, tal como solución salina fisiológica u otros líquidos inyectables. Como se utiliza en la presente, la frase "portador farmacéuticamente aceptable" está destinado a incluir cualesquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y  
25 antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la

absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. El uso de tales medios y agentes para las sustancias farmacéuticamente activas, es bien conocido en la técnica. Excepto en cuanto a que cualquier medio

5 convencional o agente sea compatible con el compuesto activo, tales medios pueden ser utilizados en la composición de la invención. Por ejemplo, la preparación del conjugado es suspendida en solución salina amortiguada con fosfato de sodio (PBS por sus siglas en ingles) (pH 7.0-8.0) a

10 concentraciones de 1 a 100  $\mu$ g del polisacárido por ml. La administración de la composición inmunogénica de la presente invención puede ser afectada mediante cualquiera de los métodos bien conocidos, incluyendo, pero no limitados a, administración parenteral (por ejemplo, subcutánea,

15 intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intradérmica, oral e intranasal. El método preferido de administración de la composición inmunogénica es la administración parenteral. Las soluciones o suspensiones utilizadas para la administración parenteral incluyen los siguientes

20 componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como

25 ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales

como ácido etilendiaminotetraacético, amortiguadores tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ser ajustado con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede ser encerrada en ampollitas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiples elaborados de vidrio o de plástico.

Las composiciones inmunogénicas adecuadas para el uso en inyectables incluyen soluciones acuosas estériles (donde sean solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables, estériles. En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida al grado en que exista el fácil manejo con jeringa. Ésta debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento, y debe ser preservada contra la acción contaminante de los microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador es un medio solvente o en dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada es mantenida, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión, o mediante

el uso de surfactantes. La prevención de la acción de los microorganismos es lograda por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares.

5 En muchos casos, es preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como mannitol, sorbitol y cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables es originada por la inclusión en la composición, de un agente que retrasa la  
10 absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles son preparadas mediante la incorporación de un conjugado de esta invención en la cantidad requerida, en un solvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes proporcionados anteriormente,  
15 como se requiera, seguido por esterilización por filtración. En general, las dispersiones son preparadas mediante la incorporación del compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de aquellos proporcionados  
20 anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son secado a vacío y liofilización, lo cual produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución del  
25 mismo previamente filtrada por esterilización.

En ciertas modalidades, la composición inmunogénica comprenderá uno o más adyuvantes. Como se define en la presente, un "adyuvante" es una sustancia que sirve para aumentar la inmunogenicidad de una composición inmunogénica de esta invención. De este modo, los adyuvantes son frecuentemente administrados para reforzar la respuesta inmune y son bien conocidos para la persona experta en la técnica.

Los adyuvantes preferidos para aumentar la efectividad de la composición incluyen, pero no están limitados a:

(1) sales de aluminio (alumbre), tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, sulfato de aluminio, etc.;

(2) formulaciones de emulsión aceite en agua (con o sin otros agentes inmunoestimuladores específicos tales como muramil-péptidos (ver más adelante) o componentes de la pared celular bacteriana), tales como, por ejemplo,

(a) MF59 (Publicación del PCT No. WO90/14837), que contiene 5% de escualeno, 0.5% de Tween 80, y 0.5% de Span 85 (que contiene opcionalmente diversas cantidades de MTP-PE (ver más adelante, aunque no se requiere)) formulado en partículas submicrónicas utilizando un microfluidizador tal como el microfluidizador Modelo 110Y (Microfluidics, Newton, MA),

(b) SAF, que contiene 10% de escualeno, 0.4% de Tween 80, 5% de polímero L121 bloqueado con pluronic, y thr-MDP (ver más adelante) ya sea microfluidizado en una emulsión submicrónica o agitado en torbellino para generar una  
5 emulsión de tamaño de partícula más grande, y

(c) el sistema adyuvante Ribi<sup>MR</sup> (RAS) (Corixa, Hamilton, MT) que contiene 2% de escualeno, 0.2% de Tween 80 y uno o más componentes de la pared celular bacteriana del grupo que consiste de monofosforilípido A 3-O-desacilado  
10 (MPL<sup>MR</sup>) descrito en la Patente de los Estados Unidos No. 4,912,094 (Corixa), dimicolato de trehalosa (TDM), y el esqueleto de la pared celular (CWS), preferentemente MPL + CWS (Detox<sup>MR</sup>);

(3) adyuvantes de saponina, tales como Quil A o  
15 STIMULON<sup>MR</sup> QS-21 (Antigenics, Framingham, MA) (Patente de los Estados Unidos No. 5,057,540) pueden ser utilizados o las partículas generadas a partir de éstos tales como ISCOMs (complejos de inmunoestimulación);

(4) lipopolisacáridos bacterianos, análogos de lípido A  
20 sintéticos, tales como compuestos de fosfato de aminoalquilglucosamina (AGP), o derivados o análogos de los mismos, los cuales son disponibles de Corixa, y que son descritos en la Patente de los Estados Unidos No. 6,113,918; uno tal como AGP es 2-[(R)-3-tetradecanoiloxitetra  
25 decanoilamino]etil-2-desoxi-4-O-fosfono-3-O-[(R)-3-tetradecanoiloxi  
tetradecanoil]-2-[(R)-3-tetradecanoiloxitetradecanoilamino]-b-D-

glucopiranosido, el cual es también conocido como 529 (antiguamente conocido como RC529), el cual es formulado como una forma acuosa o como una emulsión estable, polinucleótidos sintéticos tales como los oligonucleótidos que contienen 5 porciones CpG (Patente de los Estados Unidos No. 6,207,646);

(5) citocinas, tales como interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-18, etc.), interferones (por ejemplo, interferón gamma), factor de estimulación de colonias de granulocitos-macrófagos 10 (GM-CSF), factor de estimulación de colonias de macrófagos (M-CSF), factor de necrosis tumoral (TNF), etc.;

(6) mutantes destoxificados de una toxina bacteriana de ribosilación de ADP tal como una toxina del cólera (CT) ya sea en una forma de tipo silvestre o mutante, 15 por ejemplo, donde el ácido glutámico en la posición del aminoácido 29 es reemplazado por otro aminoácido, preferentemente una histidina, de acuerdo con el número de solicitud de patente internacional publicada WO00 /18434 (ver también WO 02/098368 y WO 02/098369), una toxina pertussis 20 (PT), o una toxina de *E. coli* lábil al calor (LT), particularmente LT-K63, LT-R72, CT-S109, PT-K9/G129 (ver, por ejemplo, WO 93/13302 y WO 92/19265); y

(7) otras sustancias que actúan como agentes inmunoestimuladores para aumentar la efectividad de la 25 composición.

Como se mencionó anteriormente, los muramil-péptidos incluyen, pero no están limitados a, N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-normuramil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-  
5 hidroxifosforiloxi)-etilamina (MTP-PE), etc.

Las composiciones inmunogénicas de la presente invención son administradas en cantidades suficientes para provocar una respuesta inmunogénica. Las dosis pueden ser ajustadas con base en el tamaño, peso o la edad del individuo  
10 que recibe la composición inmunogénica. La respuesta del anticuerpo en un individuo puede ser monitorizada mediante la evaluación del título de anticuerpo o la actividad bactericida y reforzada si es necesario para aumentar la respuesta.

15 Las composiciones inmunogénicas de la presente invención son administradas a un sujeto para inducir una respuesta inmune humoral. El sujeto actúa entonces como una fuente de inmunoglobulina (inmunoglobulina hiperinmune) producida en respuesta a la composición inmunogénica. El  
20 sujeto inmunizado dona el plasma del cual es luego obtenida la globulina hiperinmune, vía la tecnología convencional de fraccionamiento de plasma, y administrada a otro sujeto con el fin de impartir resistencia contra o tratar la infección nosocomial.

### EJEMPLOS

La descripción anterior describe en general la presente invención. Un entendimiento más completo puede ser obtenido por referencia a los siguientes Ejemplos 5 específicos. Estos Ejemplos son descritos solamente para fines de ilustración y no están destinados a limitar el alcance de la invención.

#### Ejemplo 1

##### Purificación de los Polisacáridos CP5 y CP8 de *S. aureus*

10            *S. aureus* cepas Lowenstein (ATCC #49521) y Wright (ATCC #49521) fueron utilizadas para la purificación de CP5 y CP8, respectivamente. Los polisacáridos fueron purificados a partir de las células mediante los métodos modificados de aquellos publicados previamente (Fournier, Vann et al. 1984; 15 Fournier, Hannon et al. 1987). Las células desarrolladas en caldo Columbia, suplementado con 2% de cloruro de sodio, fueron digeridas por 3 horas a 37°C con lisostafina (175 U/g de células), ARNasa y ADNasa (0.1 mg/g de cada uno) por 4 horas a 37°C, seguido por digestión con pronasa (1 mg/g de 20 células) por 3 horas a 37°C. El CP crudo fue preparado a partir de la digestión enzimática por precipitación secuencial con 25% y 75% de etanol en presencia de cloruro de calcio al 10 mM. El CP fue luego purificado a partir del botón celular mediante cromatografía de intercambio aniónico 25 sobre una columna Q-Sepharose utilizando un gradiente lineal

de 0.05-0.5 M de cloruro de sodio. El ácido teicoico residual fue oxidado con peryodato de sodio ( $\text{NaIO}_4$ ) 0.05 M. Después de la diálisis el CP fue entonces purificado adicionalmente mediante cromatografía de exclusión de tamaño  
5 sobre una columna Sephacryl S300 (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). La presencia del CP en las fracciones fue determinada mediante reactividad con antisueros específicos para CP5 y CP8 de *S. aureus*.

PIA fue purificado a partir de las células de *S. epidermidis* en fase estacionaria, extraídas por calor, y  
10 combinado con sobrenadante de cultivo que contenía PIA como se describe por Mack, et al. (Mack, Fischer et al. 1996). El material extraído y el sobrenadante de cultivo fueron concentrados utilizando una membrana 10K y tratados para  
15 remover los ácidos nucleicos y las proteínas residuales. El PIA crudo fue fraccionado utilizando filtración en gel o diafiltración. El material positivo al antígeno PIA fue fraccionado adicionalmente mediante cromatografía de intercambio aniónico para purificar la fracción de PIA que  
20 contenía el succinato enlazado al éster. La fracción que fluyó de lado a lado, que contenía PIA no succinilado y parcialmente no-N-acetilado, se purificó mediante cromatografía de intercambio catiónico. El PS/A (PNSG, PNAG) fue purificado como se describe por (Maira-Litran, Kropec et  
25 al. 2002) o McKenney, Pouliot et al. 1999.

**Ejempl 2****Análisis de CP5 y CP8 de *S. aureus***

La caracterización química de CP5 y CP8 purificados demostró que ambos polisacáridos estuvieron prácticamente  
5 libres de ácidos nucleicos y de proteína residual (Tabla 1).

La composición de azúcar determinada por cromatografía de HPAEC reveló la presencia de Fuc<sub>p</sub>NAc y Man<sub>p</sub>NAcA en CP5 y CP8 (Figura 1). Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Protones (RMN <sup>1</sup>H) de los  
10 polisacáridos O-desacetilados (Figura 2) fueron similares a los espectros previamente publicados (Vann, Moreau et al. 1987; Moreau, Richards et al. 1990), confirmando la estructura y la presencia de tres monosacáridos: ácido 2-acetamido-2-desoxi-D-manurónico, 2-acetamido-2-desoxi-L-  
15 fucosa y 2-acetamido-2-desoxi-D-fucosa.

El CP5, CP8 y TA purificados fueron inmunológicamente distintos como fue confirmado por una banda de precipitina simple en un ensayo de inmunodifusión doble cuando se hizo reaccionar con antisueros celulares completos  
20 correspondiente (datos no presentados).

**Ejemplo 3****Purificación de las proteínas adhesinas superficiales**

Las proteínas adhesinas superficiales evaluadas fueron:

25 - Clf40 de *S. aureus* (N1N2N3) - dominio A de

longitud completa del factor A de Aglomeración (aminoácidos (AA) 40-559) - Figura 3.

- Clf41 de *S. aureus* (N2N3) - fragmento del sitio de post-proteasa de Clf 40 (AA 223-559) - Figura 4.

5 - SdrG de *S. epidermidis* (N1N2N3) - dominio A de longitud completa de SdrG (AA 50-597) - Figura 5.

- SdrG de *S. epidermidis* (N2N3) - fragmento del sitio de post-proteasa de SdrG (AA 273-597) - Figura 6.

Estas proteínas adhesinas superficiales fueron  
10 obtenidas de Inhibitex, Inc., Alpharetta, GA., EUA.

Las versiones con etiqueta de His negativa (Histag-  
menos) de las proteínas adhesinas superficiales fueron  
purificadas a partir de las cepas hospederas plasmídicas de  
*E. coli*. *E. coli* pLP1134 BL21(DE3) fue utilizada para *S.*  
15 *aureus* ClfA41 (N2,N3) y pLP1135 B21(DE3) para la purificación  
de *S. epidermidis* SdrG (N2,N3). Ambas proteínas fueron  
aisladas de las fracciones solubles del lisado celular  
mediante precipitación con sulfato de amonio y cromatografía  
de intercambio iónico subsecuente sobre una columna Sephacryl  
20 Q-Sepharose (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). La  
pureza del material final fue mayor de 90% como se determinó  
mediante SDS-PAGE.

Las células de *E. coli* que contienen Clf40 de *S.*  
*aureus* sobre-expresado (N1,N2,N3) o Clf41 (N,N3), *S.*  
25 *epidermidis* SdrG (n1,N2,N3) o SdrG (N2,N3) fueron

solubilizadas en un paso simple a través de un microfluidizador Microfluidics M110-Y aproximadamente a 914.23 kg/cm<sup>2</sup> (13000 psi). El desecho celular fue removido mediante centrifugación a 17000 rpm por 30 minutos a 4°C.

5 Las proteínas sobre-expresadas fueron purificadas a partir del sobrenadante utilizando un explorador AKTA, columna Quelante XK Sepharose de Flujo Rápido y resinas de HP Q Sepharose (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). La proteína cruda marcada con His fue purificada a partir del

10 sobrenadante mediante un paso de afinidad con el Flujo Rápido de Sepharose Quelante cargado con NiCl<sub>2</sub> 0.1 M. El lisado crudo fue cargado sobre la columna equilibrada con Tris 25 mM, pH 8.0, NaCl 0.5 M, imidazol 5 mM y proteínas no enlazadas fueron eluidas de la columna mediante lavado de la

15 columna con cinco volúmenes de columna del amortiguador. La proteína enlazada fue luego eluida con Tris 25 mM, pH 8.0, NaCl 0.5 M, amortiguador de imidazol 500 mM y se recolectó a granel. La proteína fue luego purificada adicionalmente de las impurezas remanentes mediante cromatografía de

20 intercambio iónico sobre una columna Q Sepharose HP.

#### Ejemplo 4

**Síntesis de las composiciones inmunogénicas del conjugado CP5 y CP8 de *S. aureus*-proteína portadora adhesina superficial**

Los polisacáridos CP5 y CP8 de *S. aureus* fueron

25 separadamente enlazados a una proteína portadora adhesina

superficial proporcionada en la presente a través de un enlace tioéter, después de la introducción de un grupo tiol que contiene un ligador para el polisacárido, y un grupo aloacetilo a la proteína portadora. Los grupos bromoacetilo  
5 fueron introducidos dentro de la proteína adhesina superficial por reacción de los grupos amino con el éster de N-hidroxisuccinimida del ácido bromoacético (Figura 7). Para generar el CP tiolado, los grupos carboxilato activados con carbodiimida del ácido N-acetilmannosaminourónico en el  
10 polisacárido capsular fueron acoplados al grupo hidrazida del ligador heterobifuncional de hidrazida reactiva con el sulfhidrilo, la hidrazida de 3-(2-piridilditio)-propionilo (PDPH, Figura 8). Los tioles de CP tiolado con PDPH, generados mediante reducción con ditioneitol (DTT) y  
15 purificados por SEC sobre una columna Sephadex G25, reaccionaron con los grupos bromoacetilo de las proteínas activadas, dando como resultado un enlace tioéter covalente formado por el desplazamiento del bromo entre el CP y la proteína (Figura 9). Los grupos bromoacetilo sin reaccionar  
20 fueron "protegidos o encasquetados" con clorhidrato de cisteamina (clorhidrato de 2-aminoetanotiol). La mezcla de reacción fue luego concentrada sobre una membrana Amicom XM 100.

**Ejemplo 5****Caracterización de las composiciones inmunogénicas conjugadas de CP5 y CP8 de *S. aureus*-proteína portadora adhesina superficial**

5 Las composiciones inmunogénicas conjugadas fueron analizadas para CP y los contenidos de proteína portadora adhesina superficial mediante cuantificación de CP por cromatografía HPAEC-PAD sobre una columna Carbo Pac-PA1 después de la hidrólisis con el ácido trifluoroacético 4 N  
10 (TFA). El contenido de proteína fue determinado mediante ensayo colorimétrico de Lowry. Los pesos moleculares de las composiciones inmunogénicas conjugadas fueron determinados mediante una combinación de cromatografía de exclusión de tamaño y dispersión de luz de láser de ángulo múltiple (MALLS  
15 por sus siglas en ingles). Los resultados se reportan en las Tablas 2 y 3. La antigenicidad del CP y las proteínas adhesinas superficiales, conjugadas, se determinaron mediante inmunodifusión doble (Figura 10-13) y mediante análisis de transferencia por puntos (Figura 14). Los resultados  
20 mostraron que la conjugación de CP a las proteínas adhesinas superficiales, no alteró la antigenicidad del CP o de la proteína. La conjugación de CP a la proteína fue confirmada en el ensayo de transferencia por puntos por la habilidad del conjugado para enlazarse a una membrana de nitrocelulosa. El  
25 CP no conjugado no se enlazó a una membrana de nitrocelulosa.

---

**Ejemplo 6**

**Inmunogenicidad de las composiciones inmunogénicas del  
conjugado de CP-proteína portadora adhesina superficial, en  
ratones**

5 Las composiciones inmunogénicas conjugadas fueron  
probadas para la capacidad de inducir respuestas de IgG hacia  
CP5 y CP8 y la proteína portadora adhesina superficial.  
Ratones Swiss-Webster fueron inmunizados subcutáneamente (SC)  
tres veces en intervalos de dos semanas con una dosis de 1  
10 microgramo (basado en CP). La inmunogenicidad de las  
composiciones inmunogénicas conjugadas fue probada con y sin  
100 microgramos de fosfato de aluminio como un adyuvante.  
Los candidatos individuales de la composición inmunogénica  
proteica fueron evaluados así como también el uso de un  
15 protocolo similar. La respuesta inmune a CPs de *S. aureus* y  
la proteína adhesina superficial fueron evaluados una semana  
después de cada inyección mediante ELISA de antígeno estándar  
(ver Ejemplos 7 y 8 siguientes).

**Ejemplo 7**

20 **Respuesta del anticuerpo para CP en ratones inmunizados c n**  
**las composiciones inmunogénicas conjugadas CP5 y CP8 de *S.***  
***aureus*-proteína portadora adhesina superficial**

Los resultados (Figuras 15 y 16) muestran que el  
enlace covalente de los CPs a las proteínas adhesinas  
25 superficiales dan como resultado la inducción de una

respuesta de IgG específica del polisacárido capsular (CP). Esto demuestra que la respuesta inmune independiente de las células T para CP, fue convertida a una respuesta inmune dependiente de las células T después del acoplamiento del CP a la proteína portadora adhesina superficial. La adsorción de las composiciones inmunogénicas conjugadas al fosfato de aluminio incrementó los títulos de anticuerpo para CP por aproximadamente 10 veces, con la excepción de los ratones administrados con SdrG (N2N3) como el portador proteico. La adsorción de los conjugados CP5- y CP8-SdrG (N2N3) al adyuvante no dio como resultado un incremento de la respuesta inmune para los CPs, aunque la respuesta de anticuerpo de los CPs fue tan buena como los otros conjugados de proteína adhesina superficial mezclados (pero no adsorbidos) con el adyuvante en el estudio. La supresión del dominio N1 de ClfA y SdrG no tuvo un efecto sobre las propiedades portadoras de estas proteínas.

#### **Ejemplo 8**

**Respuesta del anticuerpo para la proteína adhesina superficial en ratones vacunados con los conjugados de CP5 y CP8 de *S. aureus*-proteína adhesina superficial**

Las proteínas adhesinas superficiales conjugadas indujeron títulos similares de los anticuerpos específicos de la proteína adhesina superficial, en comparación con las no conjugadas (Figuras 17-20). Esto confirma que los epitopos

antigénicos no fueron modificados por la conjugación de la proteína adhesina superficial a CP. La adsorción de ClfA no conjugada o los conjugados de CP-ClfA al fosfato de aluminio, dio como resultado títulos incrementados de anticuerpo para  
5 ClfA en ratones, en comparación con los ratones inmunizados con las mismas composiciones inmunogénicas sin el adyuvante. Los ratones inmunizados con SdrG no conjugado respondieron con más bajos títulos de anticuerpo de SdrG en comparación con los ratones inmunizados con las composiciones  
10 inmunogénicas del conjugado CP-SdrG. La adsorción del SdrG no conjugado al fosfato de aluminio dio como resultado el incremento de los títulos de anticuerpos para SdrG en comparación a los niveles inducidos por los conjugados de CP-SdrG administrados sin alumbre. La adsorción de los  
15 conjugados de CP-SdrG al alumbre no incrementó los títulos de anticuerpo de SdrG.

#### **Ejemplo 9**

**Reconocimiento de los CPs y proteína adhesina superficial expresada sobre bacterias vivas mediante anticuerpos  
20 inducidos por el conjugado de CP-proteína adhesina superficial**

El enlace de los anticuerpos inducidos por los conjugados de CP-proteína adhesina superficial en ratones a bacterias vivas, fue probado mediante análisis de citometría  
25 de flujo. Las cepas de *S. aureus* empleadas en el ensayo son

mostradas en la Tabla 4. Para el análisis de los anticuerpos inducidos para los conjugados de SdrG, se utilizó *L. lactis* que expresa SdrG. Los resultados muestran (Tablas 5 y 6) que los anticuerpos específicos del polisacárido capsular y los anticuerpos específicos de ClfA o SdrG inducidos por los conjugados CP5- y CP8-proteína adhesina superficial se enlazaron a las cepas vivas que expresan los antígenos correspondientes. Esto muestra que la conjugación de CP a la proteína adhesina superficial no altera la respuesta inmune hacia los epitopos naturalmente expresados presentes sobre los antígenos CP y proteína adhesina superficial.

#### Ejemplo 10

##### Método de Análisis Citométrico de Flujo

Las cepas de *S. aureus* utilizadas fueron como sigue: Newman, un mutante suprimido en el gen de ClfA de Newman (Newman ClfA::emr) y Wright (ATCC 49525). Para elevar al máximo la expresión de ClfA, se desarrollaron bacterias *S. aureus* hasta la fase estacionaria en caldo de soya triptica. Para elevar al máximo la expresión capsular, bacterias de *S. aureus* fueron desarrolladas toda la noche sobre el agar Columbia con 2% de cloruro de sodio (BD Microbiology, Sparks, MD). La cepa Newman ClfA::emr fue desarrollada en presencia de 5 µg/ml de eritromicina para mantener la mutación de supresión de un gen. Una cepa recombinante de *Lactococcus lactis* (*L. lactis*) que expresa SdrG fue utilizada para

evaluar el reconocimiento del antígeno SdrG. La cepa de *L. lactis* fue desarrollada hasta la fase exponencial tardía en caldo M17 en presencia de 5 µg/ml de eritromicina.

Todos los cultivos bacterianos fueron cosechados, lavados dos veces en 10 ml de 1x PBS frío (Invitrogen Corp., Rockville, MD) y almacenados sobre hielo antes del análisis. Las concentraciones bacterianas fueron ajustadas con 1x PBS a  $DO_{600nm}=2.0$  utilizando un Espectrofotómetro de Registro de UV-Visible (Ultrospec 3000, Pharmacia Biotech, Cambridge, Inglaterra). Para eliminar el enlace no específico y el enlace mediado por Proteína A de la IgG de ratón a la superficie celular, todas las preparaciones bacterianas fueron incubadas por 30 minutos sobre hielo en 10 ml de una solución 1:50 (2.32 mg de IgG) de IgG de Conejo (Sigma, St. Louis, Missouri) en 1x PBS (Invitrogen Corp., Rockville, MD). Para evaluar el reconocimiento de la cápsula Tipo 8 en ausencia de enlace de ClfA, los epitopos de ClfA fueron bloqueados sobre *S. aureus* cepa Wright mediante una incubación adicional de 30 minutos con un antisuero de conejo específico de ClfA de alto título (Inhibitex, Alpharetta, GA) (dilución 1:100). Después de bloquear las incubaciones, las bacterias fueron lavadas dos veces en 10 ml de 1x PBS frío mediante centrifugación a 3000 rpm por 10 minutos. Los botones bacterianos fueron resuspendidos en 2.5% de BSA en 1x PBS (Invitrogen Corp., Rockville, MD) (PBSA) y almacenados sobre hielo.

El ensayo fue realizado en tubos de titulación (BioRad Labs, Hercules, CA). Los presangrados y el antisuero de alto título provenientes de los animales de prueba fueron diluidos en PBSA y se agregaron 0.5 ml de cada dilución de  
5 suero a los tubos apropiados que contienen 20 µl de la suspensión bacteriana. Todos los tubos fueron agitados en torbellino e incubados sobre hielo por 30 minutos. Después de la incubación, cada tubo fue agitado en torbellino y luego centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos. Los botones  
10 bacterianos fueron lavados dos veces en 0.5 ml de PBSA frío. Cada botón fue resuspendido en 0.5 ml de una dilución 1:200 del fragmento F(ab'), conjugado a PE de la IgG anti-ratón (H&L) (Rockland Labs, Gilbertsville, Pa). Las bacterias fueron resuspendidas y mezcladas mediante agitación en  
15 torbellino. Los tubos fueron incubados sobre hielo por 30 minutos agitando en torbellino dos veces a intervalos de quince minutos. Después de esta incubación, las bacterias fueron lavadas dos veces con una resuspensión final en PBSA. Los tubos fueron almacenados sobre hielo hasta el análisis de  
20 FACS.

Cada tubo de titulación fue transferido a un tubo de poliestireno de 12 x 75 mm y analizado utilizando un citómetro de flujo B-D FACSCalibur (BD Biosciences, Mansfield, MA). Los resultados fueron calificados positivos  
25 si la intensidad de fluorescencia para un antisuero dado era

mayor que la señal obtenida con los pre-sangrados a la misma dilución. Los resultados son mostrados en la Tabla 7.

Se debe entender que la discusión anterior y los ejemplos presentan meramente una descripción detallada de ciertas modalidades. Debería ser por lo tanto aparente para aquellos de experiencia ordinaria en la técnica que pueden ser realizadas diversas modificaciones equivalentes sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

Todos los artículos de revistas, otras referencias, patentes y solicitudes de patente que son idénticas en esta solicitud de patente son incorporadas por referencia en su totalidad.

Tabla 1. Caracterización de polisacáridos purificados de *S. aureus*

| Polisacárido | Proteína<br>(análisis de aminoácidos)<br>(%; p/p) | Ácidos Nucleicos (%; p/p) | Peso Molecular<br>(g/mol) |
|--------------|---------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| CP5          | 1.1                                               | 0.05                      | 5.1X10 <sup>4</sup>       |
| CP8          | 0.79                                              | 0.14                      | 4.5X10 <sup>4</sup>       |

Tabla 2. Características de las composiciones inmunogénicas conjugadas de CP5 y CP8 de *S. aureus*-proteína adhesina superficial (His+)

|    |                             |            |                                                |                                                                 |                              |
|----|-----------------------------|------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 5  | Composición<br>Inmunogénica | CP (mg/ml) | proteína<br>adhesina<br>superficial<br>(mg/ml) | Proporción<br>(p/p)<br>(CP/proteína<br>adhesina<br>superficial) | Peso<br>Molecular<br>(g/mol) |
| 10 | CP8-C1f40 (N1N2N3)          | 0.083      | 0.14                                           | 0.6:1                                                           | 2.67±0.2x10 <sup>5</sup>     |
|    | CP5-C1f40 (N1N2N3)          | 0.102      | 0.183                                          | 0.55:1                                                          | 2.33±0.3x10 <sup>5</sup>     |
|    | CP8-C1f41 (N2N3)            | 0.67       | 0.44                                           | 1.5:1                                                           | 1.78±1.1x10 <sup>5</sup>     |
|    | CP5-C1f41 (N2N3)            | 0.43       | 0.40                                           | 1:1                                                             | 1.30±0.4x10 <sup>5</sup>     |
| 15 | CP8-SdrG (N1N2N3)           | 0.59       | 0.35                                           | 1.68:1                                                          | 1.54±0.5x10 <sup>5</sup>     |
|    | CP5-SdrG (N1N2N3)           | 0.68       | 0.34                                           | 2:1                                                             | 2.01±1.4x10 <sup>5</sup>     |
|    | CP8-SdrG (N2N3)             | 0.124      | 0.15                                           | 0.83:1                                                          | 3.98±0.2x10 <sup>5</sup>     |
|    | CP5-SdrG (N2N3)             | 0.125      | 0.059                                          | 2.1:1                                                           | 3.12±0.2x10 <sup>5</sup>     |

**Tabla 3. Características de las composiciones inmunogénicas conjugadas de CP5 y CP8 de *S. aureus*-proteína adhesina superficial (His+)**

|    |  |                                     |                   |                                                          |                                                                            |                                       |
|----|--|-------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 5  |  | <b>Composición<br/>Inmunogénica</b> | <b>CP (mg/ml)</b> | <b>proteína<br/>adhesina<br/>superficial<br/>(mg/ml)</b> | <b>Proporción<br/>(p/p)<br/>(CP/proteína<br/>adhesina<br/>superficial)</b> | <b>Peso<br/>Molecular<br/>(g/mol)</b> |
| 10 |  | CP5-SdrG<br>(N2N3)(His-)            | 0.26              | 0.32                                                     | 0.81:1                                                                     | $1.18 \pm 0.1 \times 10^5$            |
|    |  | CP8-SdrG<br>(N2N3)(His-)            | 0.24              | 0.5                                                      | 0.48:1                                                                     | $2.39 \pm 0.1 \times 10^5$            |
|    |  | CP5-FnBPA                           | 0.085             | 0.135                                                    | 0.63:1                                                                     | $7.73 \pm 0.2 \times 10^5$            |
| 15 |  | CP8-FnBPA                           | 0.089             | 0.16                                                     | 0.56:1                                                                     | $9.83 \pm 0.3 \times 10^5$            |

Tabla 4. Cepas Utilizadas para el Reconocimiento de Antisueros de Antígenos Nativos mediante Citometría de Flujo

5

10

| Cepa                                     | Tipo de Cápsula | Tipo de Proteína            |
|------------------------------------------|-----------------|-----------------------------|
| <i>S. aureus</i> Newman Tipo Silvestre   | CP5             | Positivo a ClfA             |
| <i>S. aureus</i> Newman ClfA::emr        | CP5             | Suprimido en el gen de ClfA |
| <i>S. aureus</i> ATCC 49525 (Wright)     | CP8             | Positivo a ClfA             |
| <i>S. aureus</i> ATCC 49521 (Lowenstein) | CP5             | Positivo a ClfA             |
| <i>L. lactis</i> SdrG                    | Ninguno         | Positivo a SdrG             |

Tabla 5. Marcación de las cepas bacterianas con los antisueros de los Conjugados CP5- y CP8-ClfA (N2N3) mediante Citometría de Flujo

15

| Cepa                                         | Antígeno Expresado | $\alpha$ CP5-ClfA (N23) | $\alpha$ CP8-ClfA (N2N3) |
|----------------------------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------|
| <i>S. aureus</i> Newman (ClfA (-) Mutante)   | CP5                | +(276.6)                | -(2.58)                  |
| <i>S. aureus</i> ATCC 49525 (ClfA Bloqueado) | CP8                | -(1.77)                 | +(159.08)                |

20

| Cepa                        | Antígeno Expresado | $\alpha$ CP5-ClfA (N23) | $\alpha$ CP8-ClfA (N2N3) | $\alpha$ ClfA (N2N3) |
|-----------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------|
| <i>S. aureus</i> Newman WT  | ClfA CP5           | +(281.8)                | +(253.3)                 | +(169.1)             |
| <i>S. aureus</i> ATCC 49525 | ClfA CP8           | +(23.34)                | +(82.81)                 | +(85.18)             |

25

Tabla 6. Marcación de las cepas bacterianas con los  
antisueros de los Conjugados CP5- y CP8-SdrG (N1N2N3)  
mediante Citometría de Flujo

|    |  |                                |          |                       |                       |
|----|--|--------------------------------|----------|-----------------------|-----------------------|
| 5  |  | Cepa                           | Antígeno | αCP8-SdrG<br>(N1N2N3) | αCP5-SdrG<br>(N1N2N3) |
|    |  | <i>S. aureus</i> Newman        | CP5      | -(1.49)               | +(128.29)             |
|    |  | WT                             |          |                       |                       |
| 10 |  | <i>S. aureus</i> ATCC<br>49525 | CP8      | +(120.86)             | -(1.56)               |

|    |                  |               |                       |                       |                   |
|----|------------------|---------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
|    | Cepa             | Antígeno      | αCP8-SdrG<br>(N1N2N3) | αCP5-SdrG<br>(N1N2N3) | αSdrG<br>(N1N2N3) |
| 15 | <i>L. lactis</i> | SdrG (N1N2N3) | +478.27)              | +(518.31)             | +(511.73)         |

Tabla 7. Resumen del Análisis Citométrico de Flujo

|    | Conjugados de Inmunización* | Preparación Bacteriana | Antígeno(s) Relevante(s) | Resultado |
|----|-----------------------------|------------------------|--------------------------|-----------|
| 5  | CP5-ClfA                    | Newman                 | ClfA y CP5               | +         |
|    |                             | Newman ClfA::emr       | CP5                      | +         |
|    |                             | Wright                 | ClfA y CP8               | +         |
|    |                             | Wright ClfA Bloqueado  | CP8                      | -         |
|    | CP8-ClfA                    | Newman                 | ClfA y CP5               | +         |
| 10 |                             | Newman ClfA::emr       | CP5                      | -         |
|    |                             | Wright                 | ClfA y CP8               | +         |
|    |                             | Wright ClfA Bloqueado  | CP8                      | +         |
|    | CP5-SdrG                    | Newman                 | CP5                      | +         |
|    |                             | Wright                 | CP8                      | -         |
| 15 |                             | L. lactis-SdrG         | SdrG                     | +         |
|    | CP8-SdrG                    | Newman                 | CP5                      | -         |
|    |                             | Wright                 | CP8                      | +         |
|    |                             | L. lactis-SdrG         | SdrG                     | +         |

20 \* ClfA = Las regiones N1, N2, N3 o N2, N3 del dominio A de ClfA. SdrG = regiones N1, N2, N3 o N2, N3 del dominio A de SdrG

**Referencias:**

- Anonymous (1997). "National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) Report, Data Summary from October 1986-April 1997, Issued May 1997. Am J Infect Control 25: 477-487.
- Arbeit, R.D., W.W. Karakawa, et al. (1984). "predominance of two newly described capsular polysaccharide types among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*". Diagn Microbiol Infect Dis 2(2): 85-91.
- 10 Boyce, J.M. (199/). Epidemiology and Prevention of Nosocomial Infections. The Staphylococci in Human Disease. K.B. Crossley and G.L. Archer, Churchill Livingstone: 309-329.
- Chatwal et al. (1987) Infect. Immun. 55: 1878-1883.
- 15 Cheung et al. (1991) J. Clin. Invest. 87: 2236-2245.
- Eidhin, et al. (1998) "Clumping Factor B (ClfB, a new surface-located fibrinogen-binding adhesin of *Staphylococcus aureus*". Molecular Microbiology 30(2) (Oct): 245-257.
- Essawi, T., T. Na'was, et al. (1998). "Molecular, 20 antibiogram and serological typing of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from Al-Makased Hospital in East Jerusalem. Tropical Medicine & International Health 3(7): 576-583.
- Fattom, A., X. Li, et al. (1995). "Effect of conjugation 25 methodology, carrier protein, and adjuvants on the immune

response to *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides".

Vaccine 13(14): 1288-1293.

Fattom, A., R. Schneerson, et al. (1990). "Synthesis and immunologic properties in mice of vaccines composed of  
5 *Staphylococcus aureus* type 5 and type 8 capsular polysaccharides conjugated to *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. "Infection & Immunity 58(7): 2367-2374.

Fattom, A., R. Schneerson, et al. (1993). "Laboratory and clinical evaluation of conjugate vaccines composed of  
10 *Staphylococcus aureus* type 5 and type 8 capsular polysaccharides bound to *Pseudomonas aeruginosa* recombinant exoprotein A". Infect Immun 61(3): 1023-32.

Fattom, A., J. Shiloach, et al. (1992). "Comparative immunogenicity of conjugates composed of the *Staphylococcus*  
15 *aureus* type 8 capsular polysaccharide bound to carrier proteins by adipic acid dihydrazide or N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionate". Infection & Immunity 60(2): 584-9.

Fattom, A. I. y R. Naso (1996). "Staphylococcal vaccines: a  
20 realistic dream". Annals of Medicine 28(1): 43-6.

Fattom, A. I. y R. Naso (1996). "Staphylococcus aureus vaccination for dialysis patients--an update". Advances in Renal Replacement Therapy 3(4): 302-8.

Fattom, A.I., J. Sarwar, et al. (1996). "A *Staphylococcus*  
25 *aureus* capsular polysaccharide (CP) vaccine and CP-specific

- antibodies protect mice against bacterial challenge".  
Infection & Immunity 64(5): 1659-65.
- Fey, P.D., J. S. Ulphani, et al. (1999). "Characterization  
of the relationship between polysaccharide intercellular  
5 adhesin and hemagglutination in *Staphylococcus epidermidis*".  
Journal of Infectious Diseases 179(6): 1561-4.
- Foster, T.J. y M. Hook (1998). "Surface protein adhesins of  
*Staphylococcus aureus*". Trends in Microbiology 6(12): 484-8.
- Fournier, J.M., K. Hannon, et al. (1987). "Isolation of type  
10 5 capsular polysaccharide from *Staphylococcus aureus*". Ann  
Inst Pasteur Microbiol 138(5): 561-567.
- Fournier, J.M. W.F. Vann, et al. (1984). "Purification and  
characterization of *Staphylococcus aureus* type 8 capsular  
polysaccharide". Infect Immun 45(1): 87-93.
- 15 Gilbert, F.B., B. Poutrel, et al. (1994). "Immunogenicity in  
cows of *Staphylococcus aureus* type 5 capsular polysaccharide-  
ovalbumin conjugate". Vaccine 12(4): 369-74.
- Haley, R.W., D.H. Culver, et al. (1985). "The nation-wide  
nosocomial infection rate: a new for vital statistics". Am.  
20 J. Epidemiol. 121: 159.
- Hienz, S.A., T. Schennings, et al. (1996). "Collagen binding  
of *Staphylococcus aureus* is a virulence factor in  
experimental endocarditis". Journal of Infectious Diseases  
174(1): 83-88.
- 25 Hermann et al. (1993) J. Infect. Dis. 167: 312-322.

- Inodot, acute, et al. (1998). "Clumping factor B (ClfB), a new surface-located fibrinogen-binding adhesin of staphylococcus aureus [In Process Citation]". Mol. Microbiol. 30(2): 245-257.
- 5 Jonsson, K., et al. (1991) Eur. J. Biochem. 202: 1041-1048.
- Josefsson, E., K.W. McCrea, et al. (1998). "Three new members of the serine-aspartate repeat protein multigene family of Staphylococcus aureus". Microbiology 144(Pt 12): 3387-3395.
- 10 Karakawa, W.W. (1992). "The role of capsular antigens in Staphylococcus aureus immunity [editorial]". Zentralblatt fur Bakteriologie 277 (4): 415-418.
- Karakawa, W.W., J.M. Fournier, et al. (1985). "Method for the serological typing of the capsular polysaccharides of
- 15 Staphylococcus aureus". J Clin Microbiol 22(3): 445-7.
- Karakawa, W.W., A. Sutton, et al. (1988). "Capsular antibodies induce type-specific phagocytosis of capsulated Staphylococcus aureus by human polymorphonuclear leukocytes". Infect Immun 56(5): 1090-5.
- 20 Karakawa, W.W. y W.F. Vann (1982). "Capsular polysaccharides of Staphylococcus aureus". Semin. Infect. Dis. 4: 285-293.
- Kuusela, P. (1978). Nature 276: 718-720.
- Lee, C.Y. y G.B. Pier (1997). Vaccine Based Strategies for Prevention of Staphylococcal Disease. The Staphylococci in
- 25 human disease. K.B. Crossley y g. L. Archer, New York,

- Churchill Livingstone: 649-650.
- Lee, J.C. (1996). "The prospects for developing a vaccine against *Staphylococcus aureus*". Trends Microbiol 4(4): 162-6.
- 5 Lee, J.C., J.S. Park, et al. (1997). "Protective efficacy of antibodies to the *Staphylococcus aureus* type 5 capsular polysaccharide in a modified model of endocarditis in rats". Infect Immun 65(10): 4146-51.
- Lee, J.C., N.E. Perez, et al. (1988). "Purified capsular  
10 polysaccharide-induced immunity to *Staphylococcus aureus* infection". J Infect Dis 157(4): 723-730.
- Mack, D., W. Fischer, et al. (1996). "The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear beta-1,6-linked glucosaminoglycan:  
15 purification and structural analysis". Journal of Bacteriology 178(1): 175-183.
- Maira-Litran, T., A. Kropec, et al. (2002). "Immunochemical properties of the staphylococcal poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide". Infection & Immunity. 70(8): 4433-  
20 4440.
- Mamo, W., M. Boden, et al. (1994). "Vaccination with *Staphylococcus aureus* fibrinogen binding proteins (FgBPs) reduces colonisation of *S. aureus* in a mouse mastitis model". FEMS Immunol Med Microbiol 10(1): 47-53.
- 25 Mamo, W., P. Jonsson et al. (1994). "Vaccination against
-

- Staphylococcus aureus mastitis: Immunological response of mice vaccinated with fibronectin-binding protein (FnBP-A) to challenge with S. aureus". Vaccine 12(11): 988-92.
- Mamo, W., P. Jonsson, et al. (1995). "Opsonization of  
5 Staphylococcus aureus with a fibronectin-binding protein antiserum induces protection in mice". Microb Pathog 19(1): 49-55.
- McDevitt et al. (1994) Mol. Microbiol. 11: 237-248.
- McDevitt et al. (1995) Mol. Microbiol. 16: 895-907.
- 10 McDevitt et al. (1997) Eur. J. Biochem. 247: 416-424.
- McKenney, D., K.L. Pouliot, et al. (1999). "Broadly protective vaccine for Staphylococcus aureus based on an in vivo-expressed antigen". Science 284(5419): 1523-1527.
- Moreau, M., J.C. Richards, et al. (1990). "Structure of the  
15 type 5 capsular polysaccharide of Staphylococcus aureus". Carbohydr Res 201(2): 285-97.
- Moreillon, P., J.M. Entenza, et al. (1995). "Role of Staphylococcus aureus coagulase and clumping factor in pathogenesis of experimental endocarditis". Infect Immun  
20 63(12): 4738-43.
- Nada, T., S. Ichiyama, et al. (1996). "Types of methicillin-resistant Staphylococcus aureus associated with high mortality in patients with bacteremia". European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 15(4): 340-3.
- 25 Na'was, T., A. Hawwari, et al. (1998). "Phenotypic and
-

- genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients". Journal of Clinical Microbiology 36(2): 414-420.
- Nilsson, I.M., J. C. Lee, et al. (1997). "The role of  
5 staphylococcal polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis". Infection & Immunity 65(10): 4216-4221.
- Nilsson, I.M., J.M. Patti, et al. (1998). "Vaccination with a recombinant fragment of collagen adhesin provides  
10 protection against *Staphylococcus aureus*-mediated septic death". J Clin Invest 101(2): 2640-2649.
- O'Connell (1998) J. Biol. Chem., in press.
- Palma, M., S. Nozohoor, et al. (1996). "Lack of the extracellular 19-kilodalton fibrinogen-binding protein from  
15 *Staphylococcus aureus* decreases virulence in experimental wound infection". Infect Immun 64(12): 5284-5289.
- Patti, J., et al. (1992) J. Biol. Chem. 267: 4766-4772.
- Patti, J. et al. (1993) Biochemistry 32: 11428-11435.
- Patti, J.M., B.L. Allen, et al. (1994). "MSCRAMM-mediated  
20 adherence of microorganisms to host tissues". Annu Rev Microbiol 48: 585-617.
- Patti, J. y Hook, M. (1994) Cur Opin Cell Biol, 6: 752-758.
- Patti, J. et al. (1995) J of Biol Chem. 270: 12005-12011, 1995.
- 25 Reynaud-Rondier, L., A. Voiland, et al. (1991). "Conjugation
-

of capsular polysaccharide to alpha-haemolysin from Staphylococcus aureus as a glycoprotein antigen". FEMS Microbiol Immunol 3(4): 193-199.

Rupp, M.E. y P.D. Fey (2001). "In vivo models to evaluate  
5 adhesion and biofilm formation by Staphylococcus epidermidis". Methods in Enzymology 336: 206-215.

Rupp, M.E., P.D. Fey, et al. (2001). "Characterization of the Importance of Staphylococcus epidermidis Autolysin and Polysaccharide Intercellular Adhesin in the Patogénesis of  
10 Intravascular Catheter-Associated Infection in a Rat Model". J Infect Dis 183(7): 1038-1042.

Rupp, M.E., J.S. Ulphani, et al. (1999). "Characterization of the importance of polysaccharide intercellular adhesin/hemagglutinin of Staphylococcus epidermidis in the  
15 pathogenesis of biomaterial-based infection in a mouse foreign body infection model". Infection & Immunity 67(5): 2627-2632.

Rupp, M.E., J.S. Ulphani, et al. (1999). "Characterization of Staphylococcus epidermidis polysaccharide intercellular  
20 adhesin/hemagglutinin in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model". Infection & Immunity 67(5): 2656-2659.

Ryden et al. (1987) Lancet, 11: 515-518.

Schennings, T., A. Heimdahl, et al. (1993). "Immunization  
25 with fibronectin binding protein from Staphylococcus aureus

protects against experimental endocarditis in rats". Microb Pathog 15(3): 227-36.

Shinefield, H., S. Black, et al. (2002). "Use of a *Staphylococcus aureus* conjugate vaccine in patients receiving  
5 hemodialysis". N Engl J Med 346(7): 491-6.

Sompolinsky, D., Z. Samra, et al. (1985). "Encapsulation and capsular types in isolates of *Staphylococcus aureus* from different sources and relationship to phage types". J Clin Microbiol 22(5): 828-34.

10 Storch, G.A. y L. Rajagopalan (1986). "Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in children". Pediatr. Infect. Dis. 5: 59.

Switalski, L.M., J. M. Patti, et al. (1993). "A collagen receptor on *Staphylococcus aureus* strains isolated from  
15 patients with septic arthritis mediates adhesion to cartilage" Molecular Microbiology 7(1): 99-107.

Thakker, M., J. S. Park, et al. (1998). "Staphylococcus aureus serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia  
20 model". Infect Immun 66(11): 5183-9.

Thylefors, J.D., S. Harbarth, et al. (1998). "Increasing bacteremia due to coagulase-negative staphylococci: fiction  
or reality?" Infection Control & Hospital Epidemiology 19(8): 581-9.

25 Tojo, M., N. Yamashita, et al. (1988). "Isolation and

- characterization of a capsular polysaccharide adhesin from *Staphylococcus epidermidis* [published erratum appears in J Infect Dis 1988 Jul; 185(1): 268]". Journal of Infectious Diseases 157(4): 713-22.
- 5 Vann, W.F., M. Moreau, et al. (1987). "Structure and immunochemistry of *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide". UCLA Symp. Mol. Cell. Biol. New. Ser. 64: 187-198.
- Vaudaux et al. (1989) J. Infect. Dis. 160: 865-875.
- 10 Vaudaux et al. (1995) Infect. Immun. 63: 585-590.
- Weinstein, R.A. (1998). "Nosocomial infection update". Emerg Infect Dis 4(3): 416-20.
- Welch, P.G., Fattom A., Moore J. Jr. et al. (1996) "Safety and immunogenicity of *Staphylococcus aureus* type 5 capsular polysaccharide-*Pseudomonas aeruginosa* recombinant exoprotein
- 15 A conjugate vaccine in patients on hemodialysis". J. Am.Soc. Nephrol. 7: 247-253 [Abstract].

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado inmunogénico polisacárido-  
5 proteína, caracterizado porque comprende: al menos un  
antígeno polisacárido derivado de un patógeno nosocomial y al  
menos una proteína portadora adhesina superficial de  
estafilococo, en donde el conjugado genera anticuerpos  
específicos para el antígeno polisacárido y la proteína  
10 portadora adhesina superficial de estafilococo.

2. Un conjugado inmunogénico polisacárido-  
proteína, caracterizado porque comprende: un fragmento de  
oligosacárido que representa uno o más epitopos antigénicos  
de al menos un antígeno polisacárido derivado de un patógeno  
15 nosocomial y al menos una proteína adhesina portadora  
superficial de estafilococo, en donde el conjugado genera  
anticuerpos específicos para el antígeno polisacárido y para  
la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo.

3. El conjugado de conformidad con la reivindicación 1 o  
20 la reivindicación 2, caracterizado porque el antígeno polisacárido es  
derivado de un patógeno nosocomial seleccionado del grupo que comprende  
*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), estafilococo coagulasa-negativo  
(CONS), *Enterococcus* spp., *Candida albicans*, *Enterobacter* spp.,  
*Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, y  
25 *Pseudomonas aeruginosa*.

---

4. El conjugado de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque el antígeno polisacárido es derivado de *S. aureus* o CoNS.

5. El conjugado de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque CoNS es *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*).

6. El conjugado de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el antígeno polisacárido es derivado de *S. aureus* Tipo 5 (CP5) o Tipo 8 (CP8).

7. El conjugado de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque el antígeno polisacárido es la adhesina intercelular polisacárida (PIA), la adhesina polisacárida (PS/A), poli-N-succinil- $\beta$ -1-6-glucosamina (PNSG), o poli-N-acetil- $\beta$ -1-6-glucosamina (PNAG), expresados por *S. aureus* o *S. epidermidis*.

8. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo se selecciona del grupo que consiste de proteína de enlace al fibrinógeno, proteína de enlace a la fibronectina, proteína de enlace al colágeno y proteína de enlace a la vitronectina.

9. El conjugado de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo es la proteína de enlace al fibrinógeno de *S. aureus* (Factor de Aglomeración A [ClfA]).

10. El conjugado de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo es la proteína de enlace al fibrinógeno de *S. epidermidis* (SdrG).

5 11. El conjugado de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo es la proteína de enlace a la fibronectina de *S. aureus*.

12. El conjugado de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque la proteína portadora adhesina superficial de  
10 estafilococo es la proteína de enlace al colágeno de *S. aureus*.

13. El conjugado de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo es la proteína de enlace a la vitronectina de *S. aureus*.

15 14. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizado porque el antígeno polisacárido es conjugado a la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo, a través de un ligador.

15. El conjugado de conformidad con cualquiera de  
20 las reivindicaciones 1 a 14, caracterizado porque la proteína portadora adhesina superficial es una MSCRAMM® obtenida de Inhibitex Inc., Alpharetta, GA.

16. El conjugado de conformidad con la reivindicación 14, caracterizado porque el ligador es la  
25 hidrazida de 3-(2-piridilditio)-propionilo (PDPH).

17. Una composición inmunogénica, caracterizada porque comprende el conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en un portador o diluyente inmunológicamente aceptable.

5           18. La composición inmunogénica de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque comprende además un adyuvante.

10           19. La composición inmunogénica de conformidad con la reivindicación 17 o la reivindicación 18, caracterizada porque el conjugado comprende CP5 conjugado a ClfA, y el conjugado genera anticuerpos reactivos específicos para CP5 y ClfA.

15           20. La composición inmunogénica de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque el conjugado comprende CP8 conjugado a ClfA, y el conjugado genera anticuerpos reactivos específicos para CP8 y ClfA.

20           21. La composición inmunogénica de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque el conjugado comprende cualquier polisacárido de PIA, PS/A, PNAG o PNSG conjugado a ClfA, y el conjugado genera anticuerpos reactivos específicos para ese polisacárido y ClfA.

25           22. La composición inmunogénica de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque el conjugado comprende CP5 conjugado a SdrG, y el conjugado genera anticuerpos reactivos específicos para CP5 y SdrG.

23. La composición inmunogénica de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque el conjugado comprende CP8 conjugado a SdrG, y el conjugado general anticuerpos reactivos específicos para CP8 y SdrG.

5 24. La composición inmunogénica de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque el conjugado comprende cualquier polisacárido de PIA, PS/A, PNAG o PNSG conjugados a SdrG y el conjugado genera anticuerpos reactivos específicos para ese polisacárido y SdrG.

10 25. Un método para inducir inmunidad activa contra infecciones nosocomiales en un sujeto mamífero para tales infecciones, caracterizado el método porque comprende administrarle al mamífero una cantidad inmunogénica de la composición de conformidad con cualquiera de las  
15 reivindicaciones 17 a 24.

26. El método de conformidad con la reivindicación 25, caracterizado porque la administración es mediante inyección parenteral.

20 27. Un método para preparar un agente inmunoterapéutico contra infecciones nosocomiales, caracterizado porque comprende los pasos de: inmunizar un mamífero con la composición inmunogénica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 24, la recolección del plasma de mamífero inmunizado, y cosechar del plasma  
25 recolectado una globulina hiperinmune que contiene

anticuerpos anti-polisacárido y anticuerpos anti-proteína portadora adhesina superficial de estafilococos.

28. Una globulina hiperinmune caracterizada porque contiene anticuerpos dirigidos contra el antígeno  
5 polisacárido y la proteína portadora adhesina superficial de estafilococo del conjugado de conformidad con la reivindicación 1.

29. Un método para inducir inmunidad pasiva a las infecciones nosocomiales en un mamífero sujeto a tales  
10 infecciones, caracterizado porque comprende administrarle al mamífero una cantidad inmunogénica de la globulina hiperinmune de conformidad con la reivindicación 28.

30. El uso de una cantidad efectiva de un conjugado de conformidad con cualquiera de las  
15 reivindicaciones 1 a 16, en la preparación de una composición para el tratamiento o prevención de una infección nosocomial.

31. El uso de una cantidad efectiva de una globulina hiperinmune de conformidad con la reivindicación  
28, en la preparación de una composición para inducir  
20 inmunidad pasiva a una infección nosocomial.

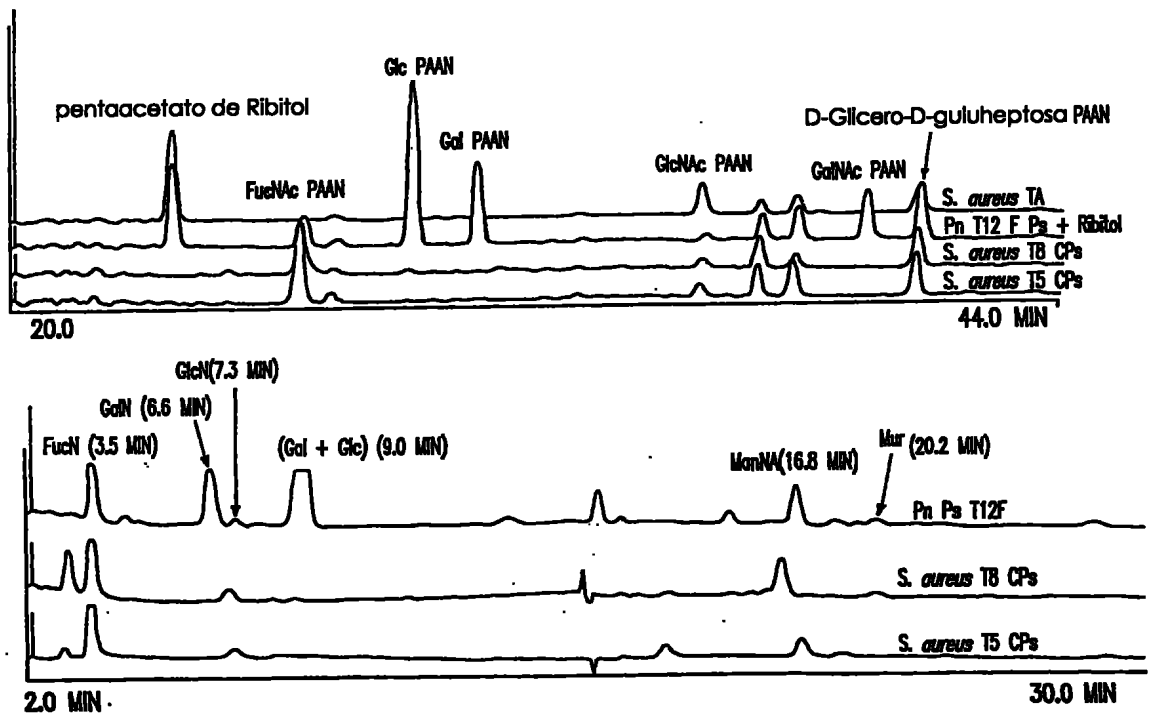


FIG.1

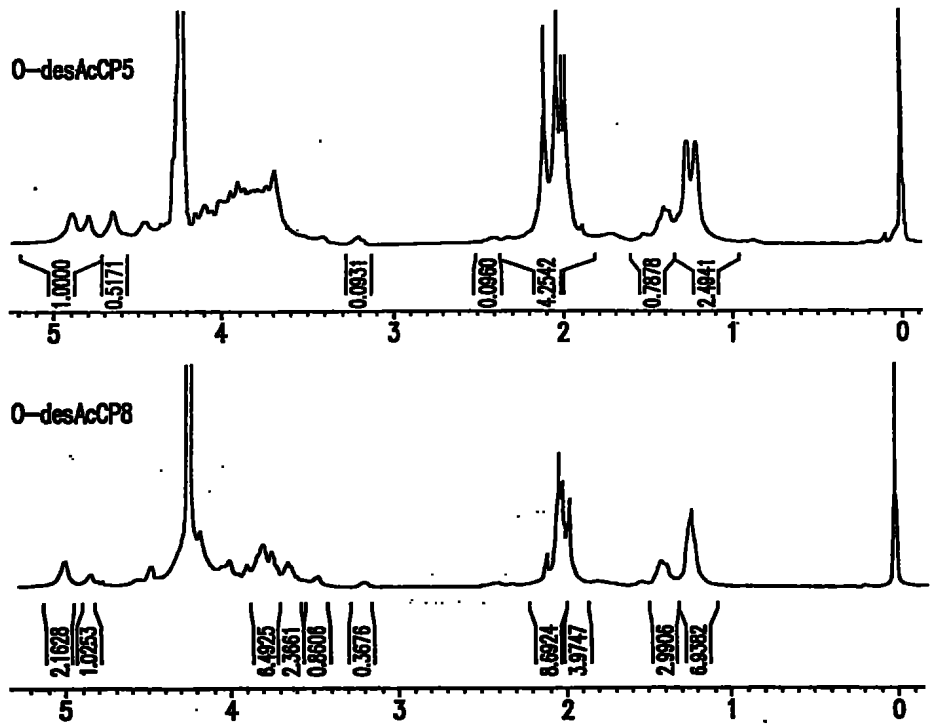
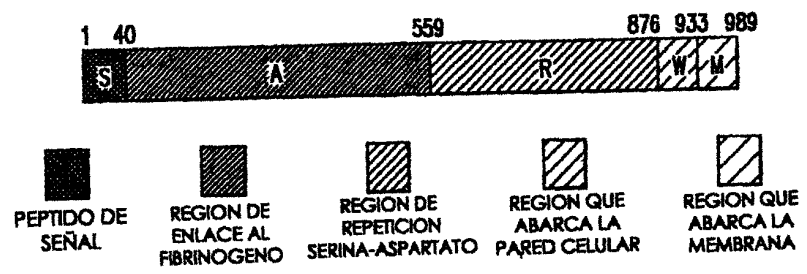


FIG.2



3/34

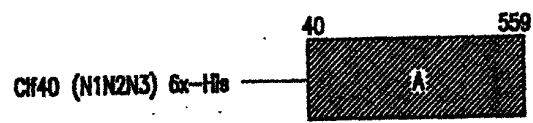


FIG.3

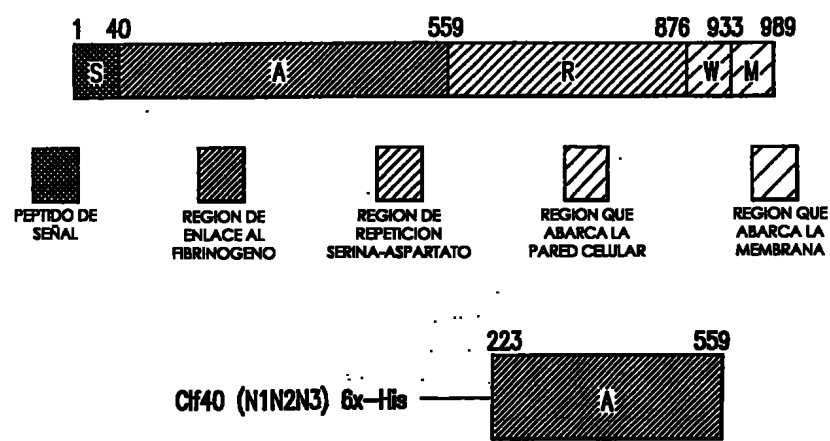
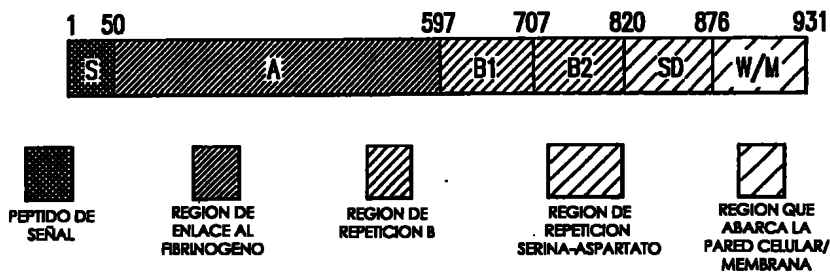


FIG.4

4/34



5/34

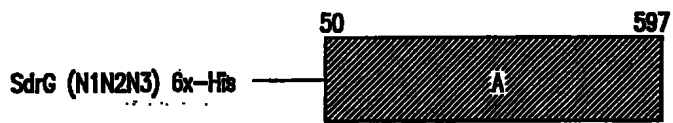
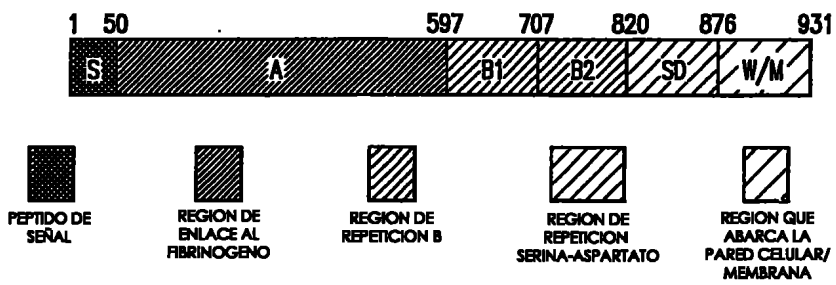


FIG.5



6/34

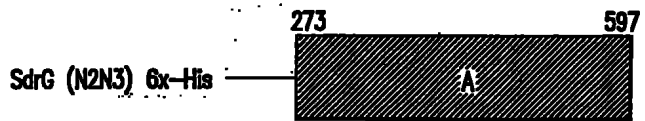


FIG.6

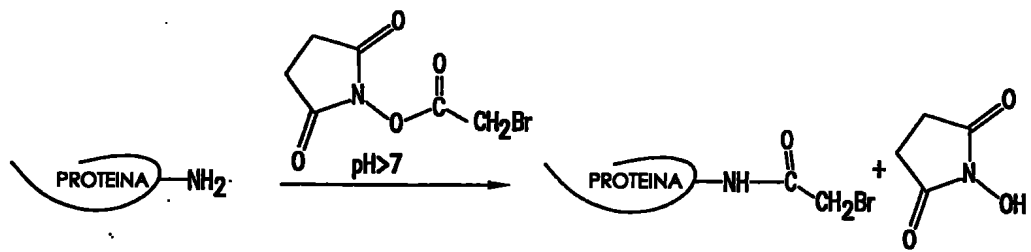


FIG.7

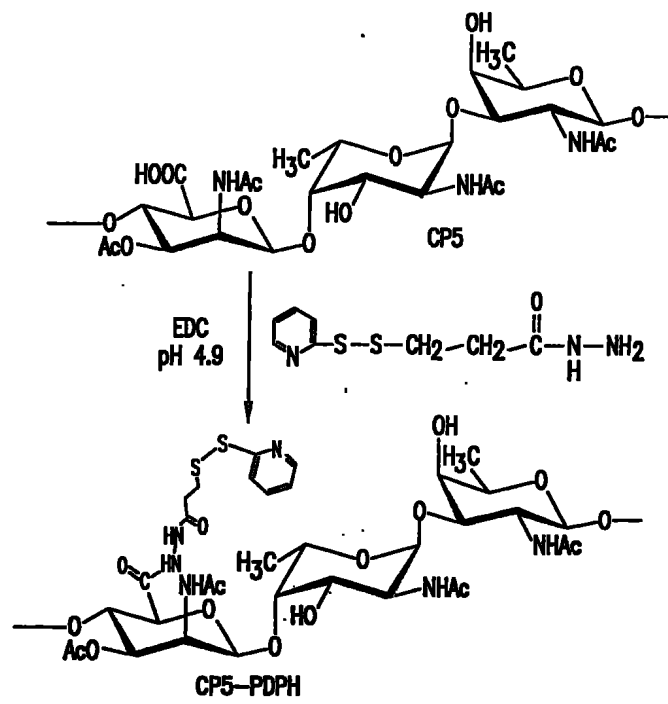


FIG.8

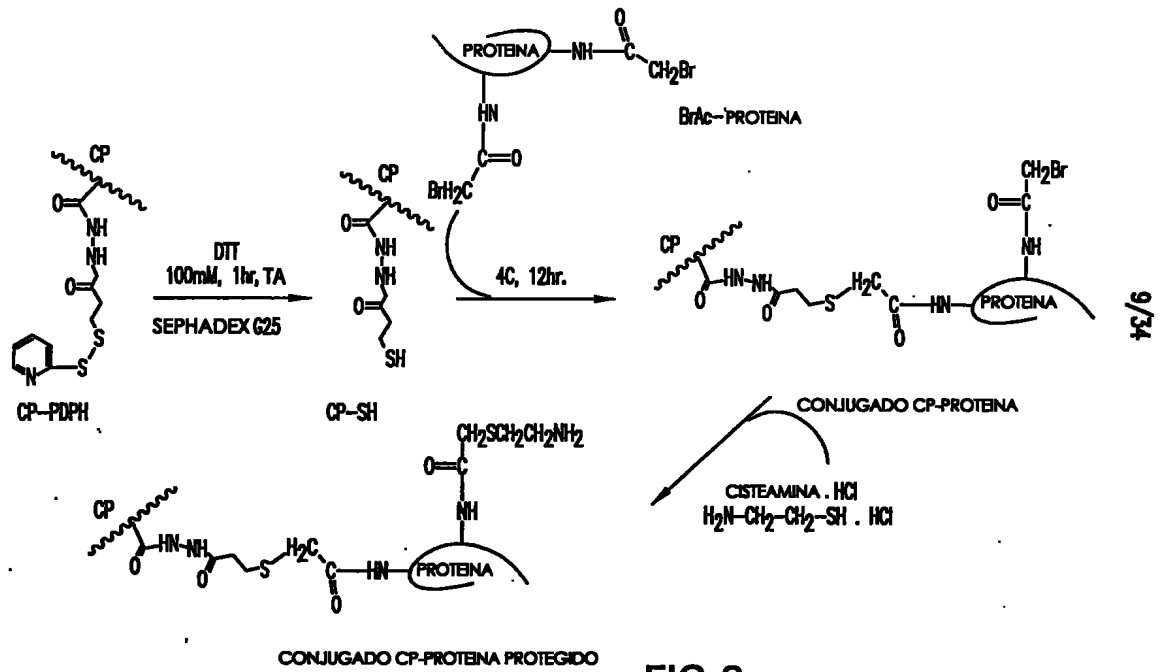
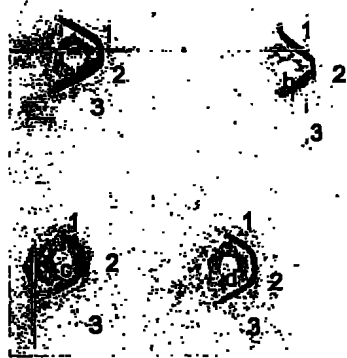


FIG.9



antisueros de CP5 de S.aureus :

- a - conejo  $\alpha$ -célula completa T5 de S.aureus
- b- conejo  $\alpha$ -CP5-CRM197 de S.aureus

← Antígenos:

- 1- CP5-SdrG (N1N2N3) ; 2- CP5-Cif41 (N2N3); 3- CP5

antisueros de CP8 de S.aureus

- c - conejo  $\alpha$ -célula completa T8 de S.aureus
- d- conejo  $\alpha$ -CP8-CRM197 de S.aureus

Antígenos:

- 1- CP8- SdrG (N1N2N3); 2- CP8- Cif41 (N2N3);
- 3- CP8

FIG.10

11/34

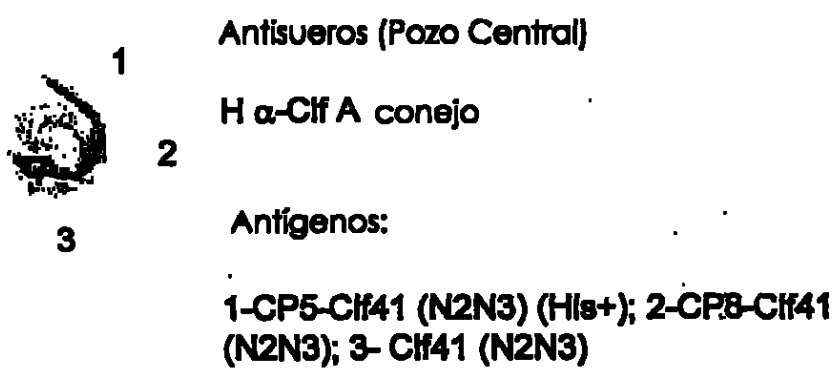


FIG. 11



- 1a-d CP5-SdrG (N2N3)
- 2 a-d CP5-Cif40 (N1N2N3)
- 3 a-d CP8-SdrG (N2N3)
- 4 a-d CP8- Cif40 (N1N2N3)
- 5a-CP5; 5b-CP8; 5c-d SdrG (N2N3),
- 6a-b amortiguador; 6c-d Cif40 (N1N2N3)

FIG.12



Antisuero:  
a -  $\alpha$ -*S.aureus* CP5-CRM<sub>197</sub> conejo

1a- CP5-CRM<sub>197</sub>; 2a-CP5-FnbA; 3a-CP5-SdrG (N2N3) (His-);  
4a-CP5; 5a-amortiguador; 6a-amortiguador

Antisuero:  
b -  $\alpha$ -*S.aureus* CP8-CRM<sub>197</sub> conejo

1b- CP8-CRM<sub>197</sub>; 2b-CP8-FnbA; 3b-CP8-SdrG (N2N3)(His-);  
4b-CP8; 5b-amortiguador; 6b-amortiguador

Antisuero:  
c -  $\alpha$ -SdrG conejo

Antígenos:  
1c- CP5-SdrG (N2N3) (His-); 2c-CP8-SdrG (N2N3) (His-);  
3c-4c BrAcSdrG (N2N3) (His-)protegido; 5c- CP5-CRM<sub>197</sub>;  
6c-amortiguador

13/34

FIG.13

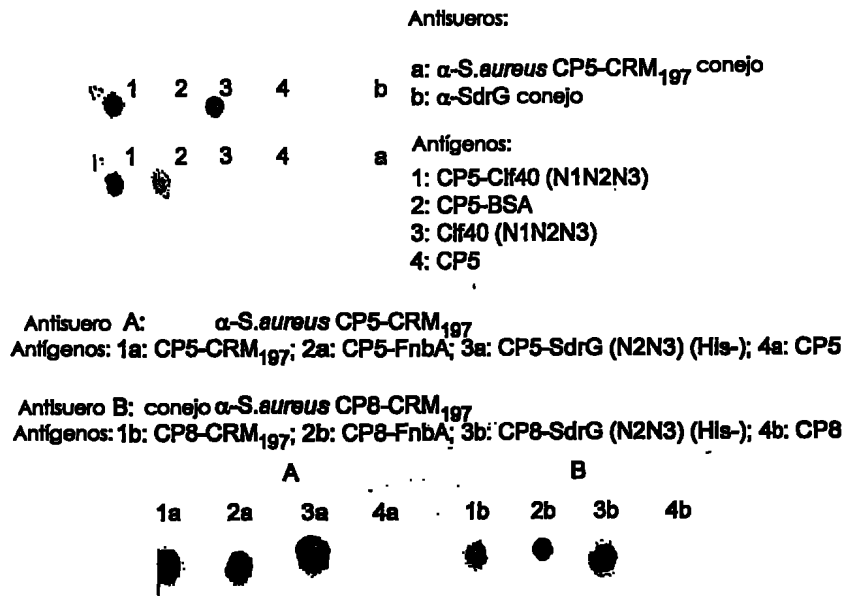


FIG.14

15/34

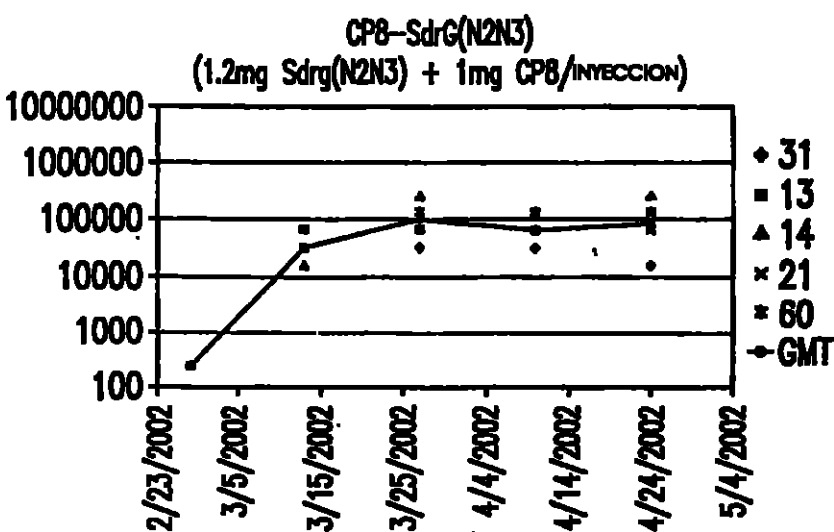


FIG.15A

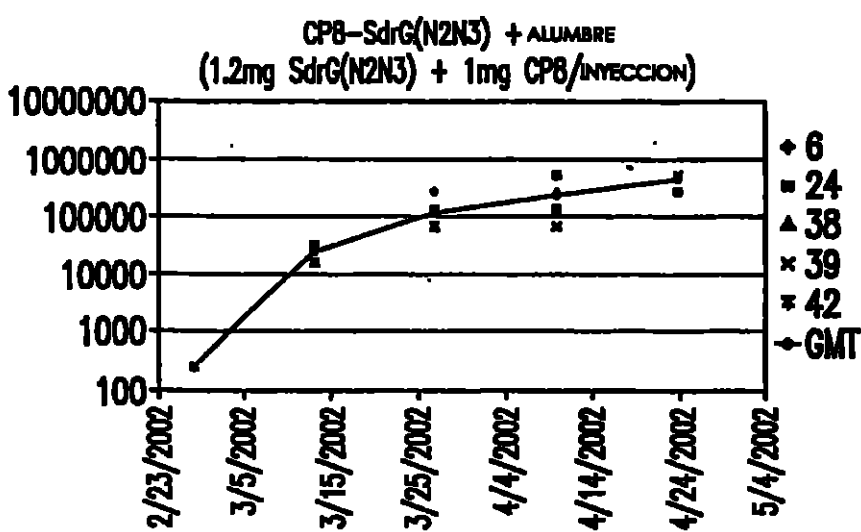


FIG.15B

16/34

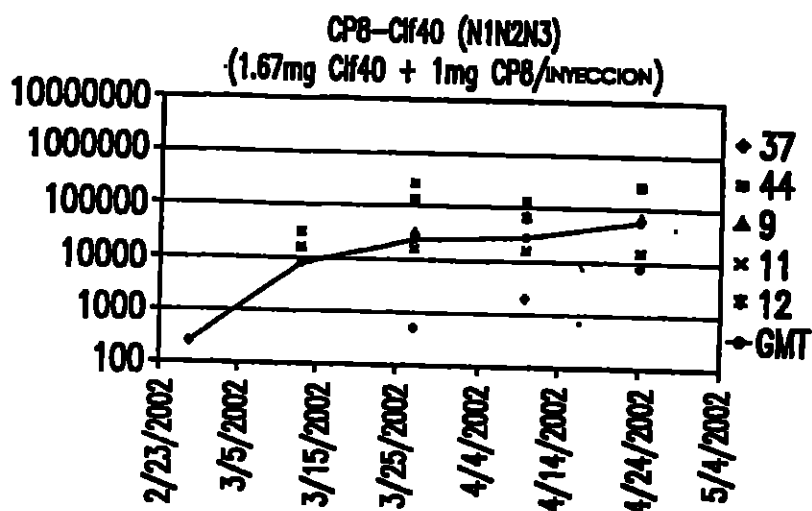


FIG.15C

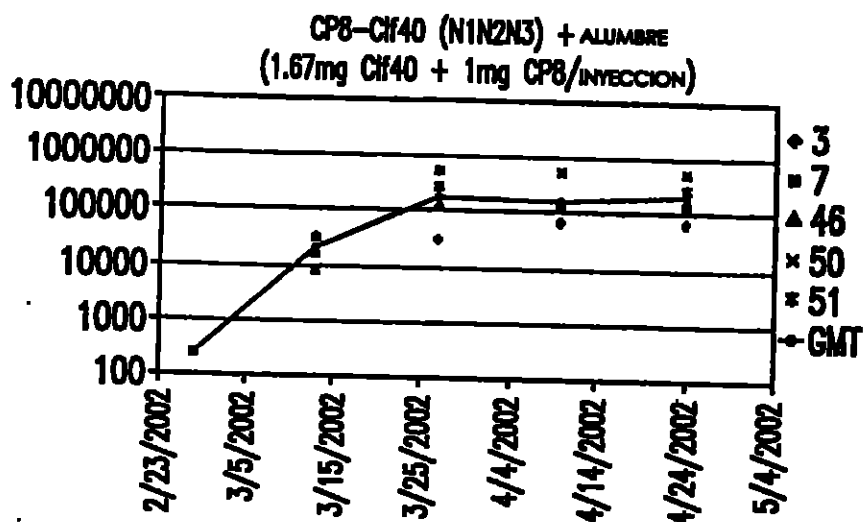


FIG.15D

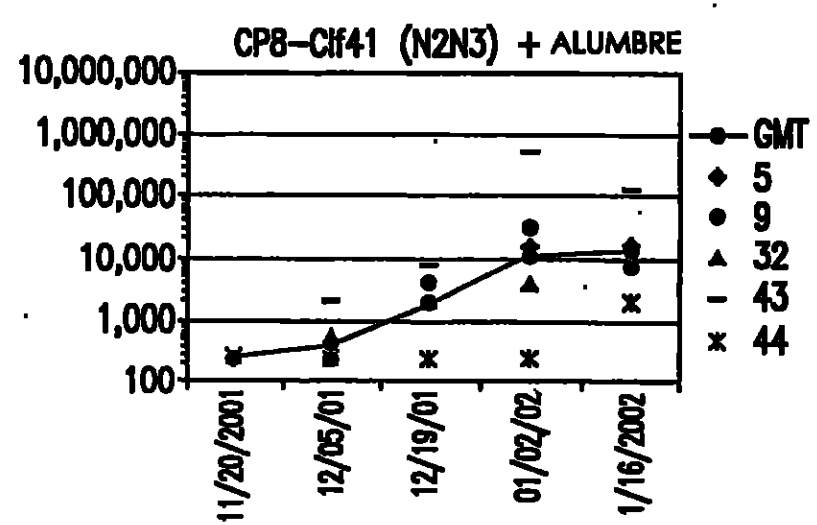


FIG. 15E

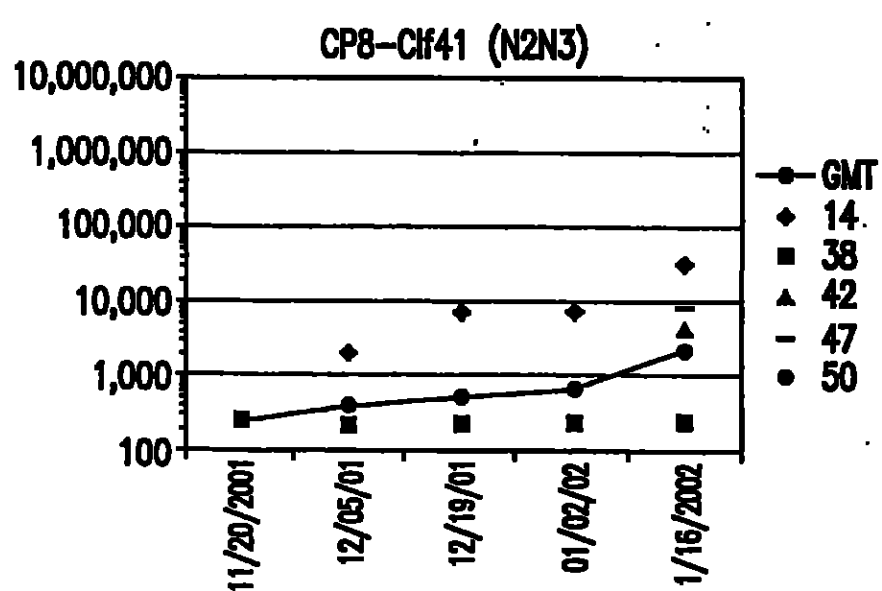


FIG. 15F

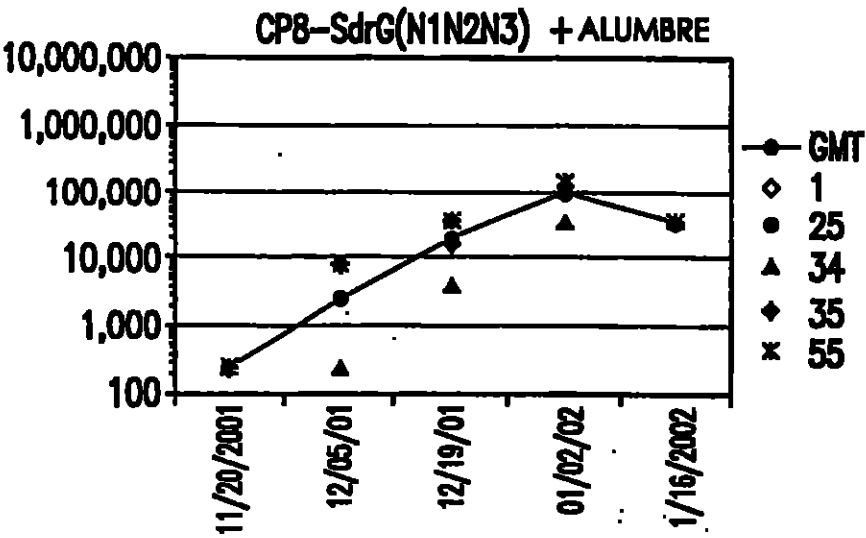


FIG. 15G

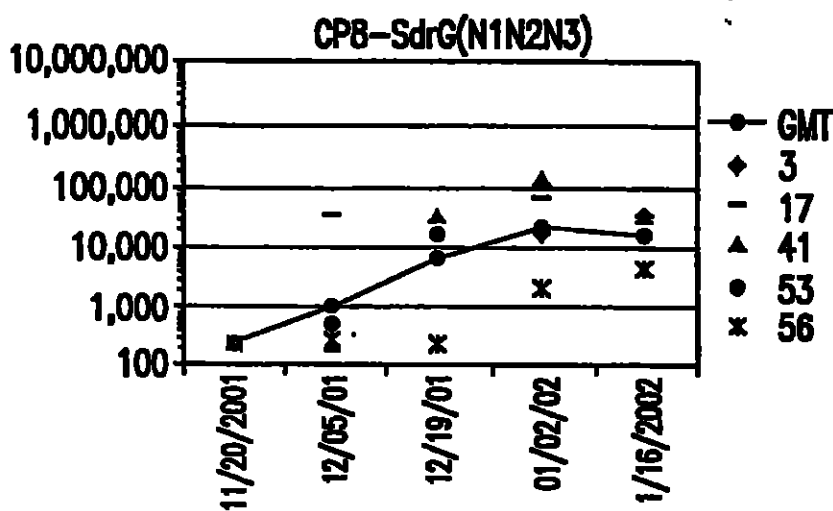


FIG. 15H

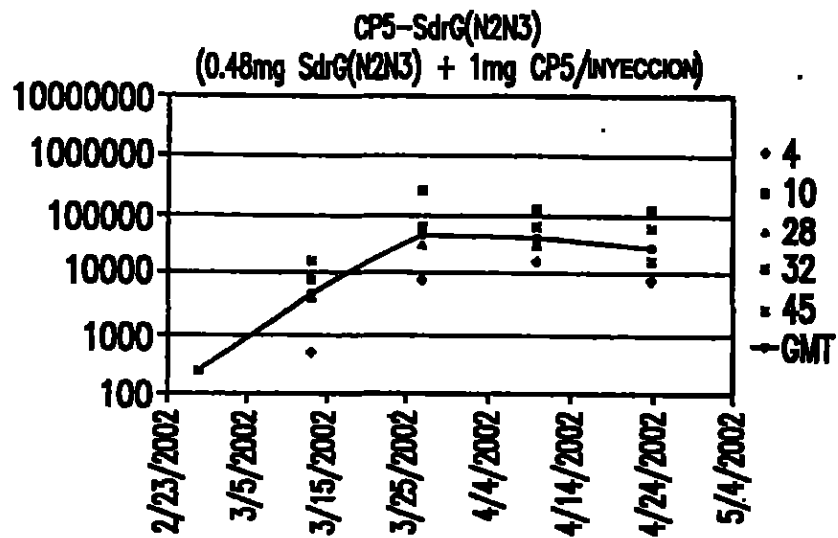


FIG. 16A

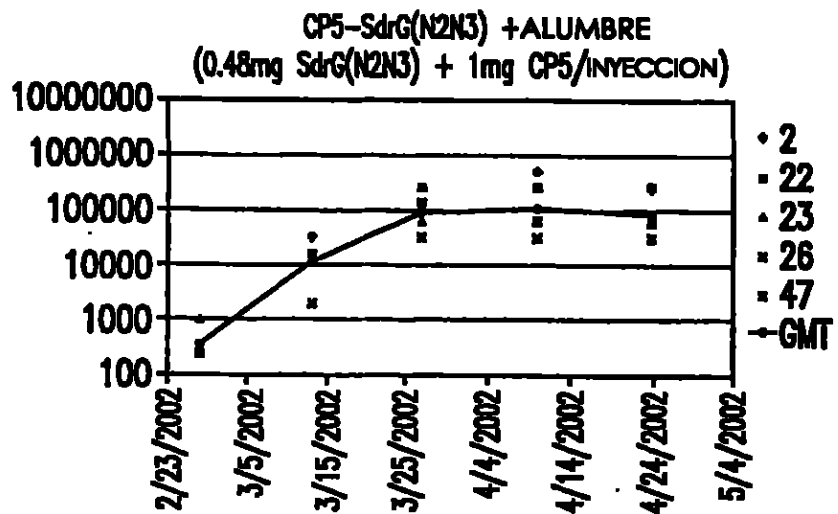


FIG. 16B

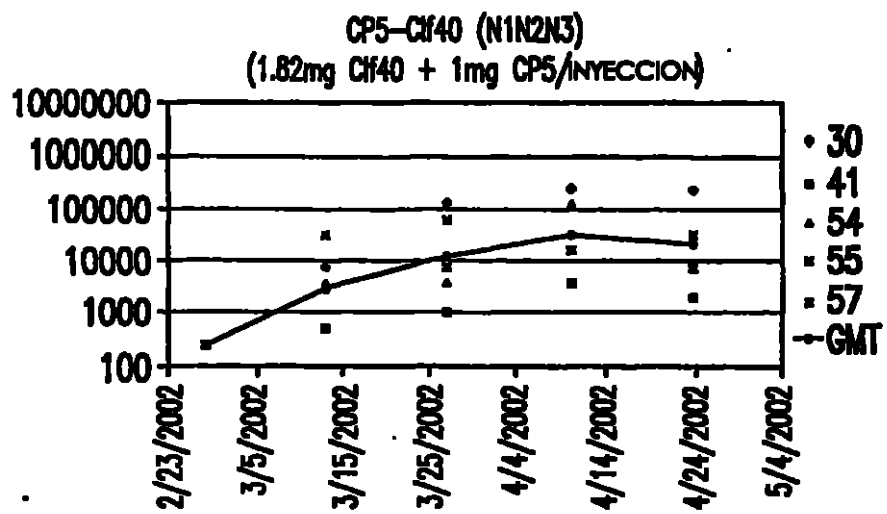


FIG. 16C

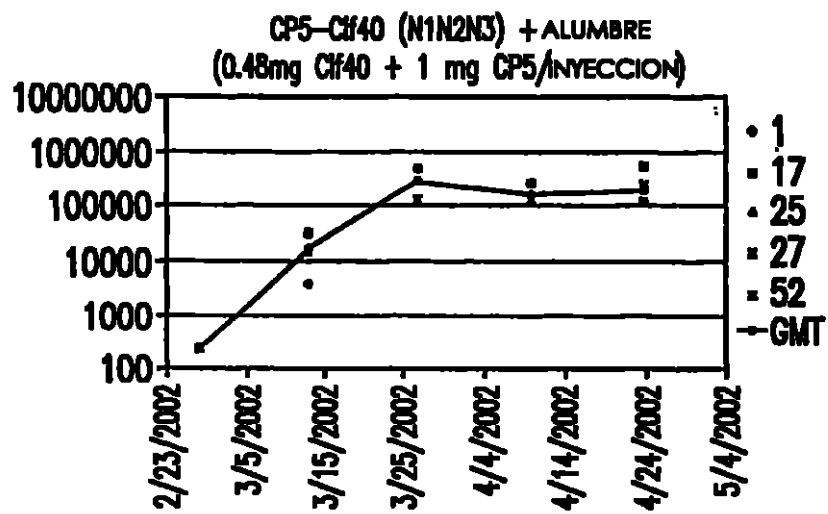


FIG. 16D

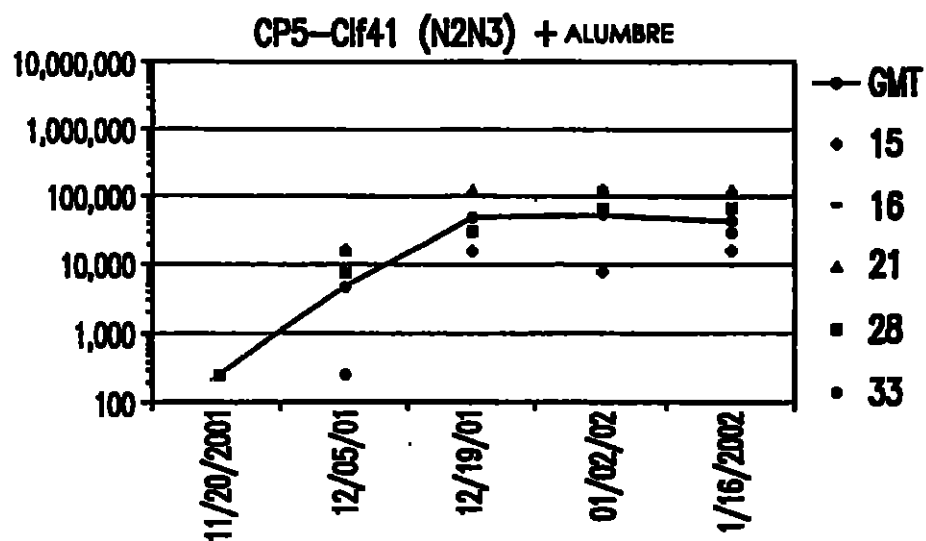


FIG.16E

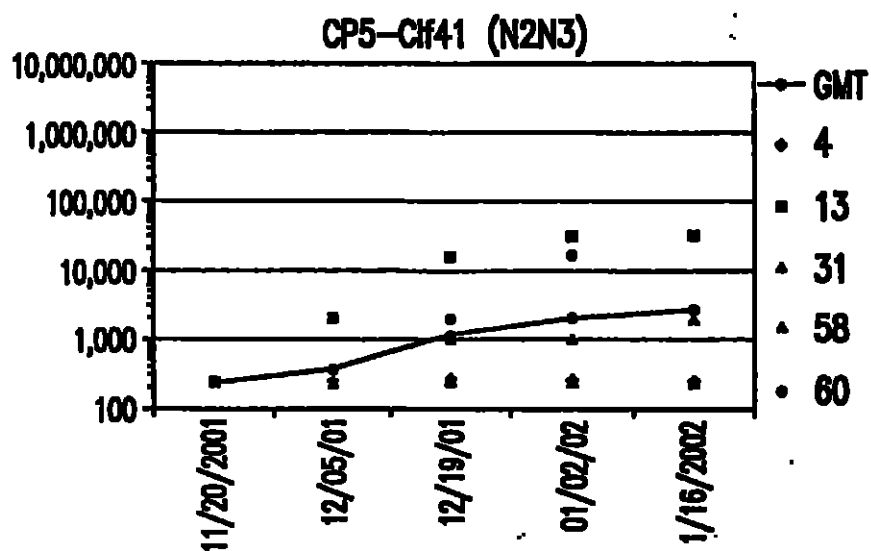


FIG.16F

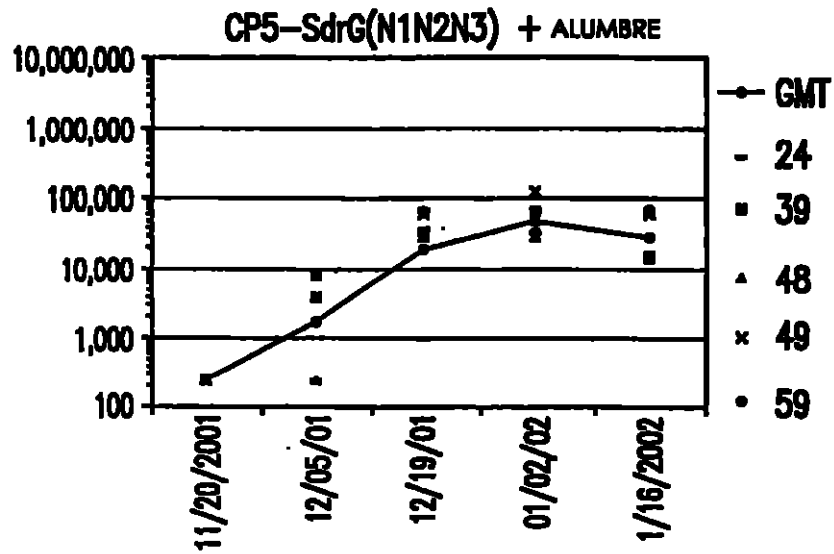


FIG. 16G

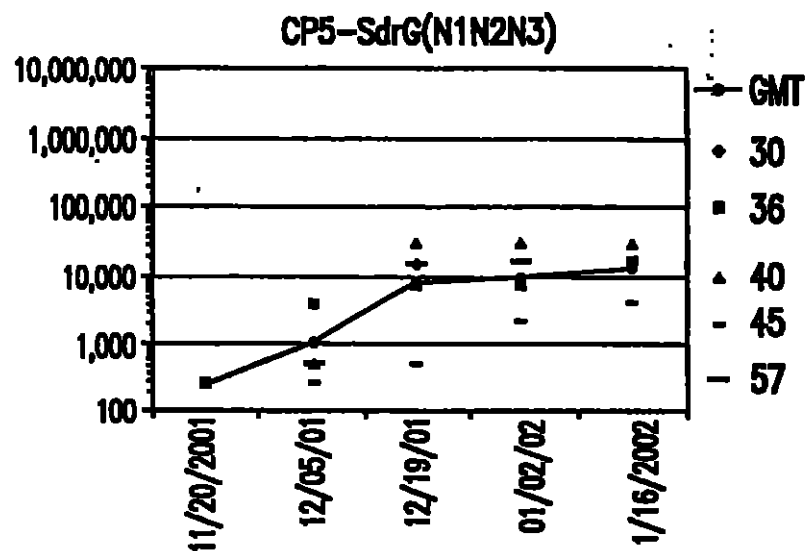


FIG. 16H

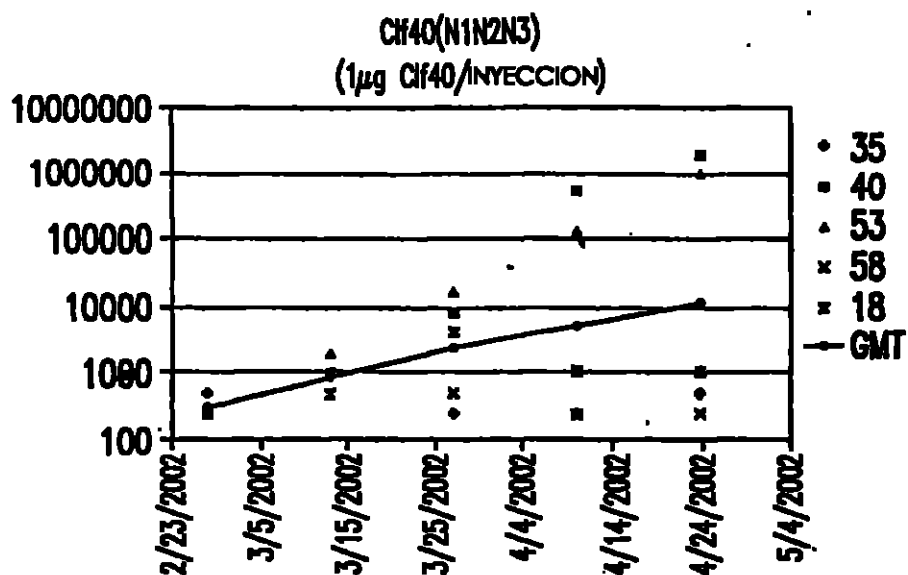


FIG.17A

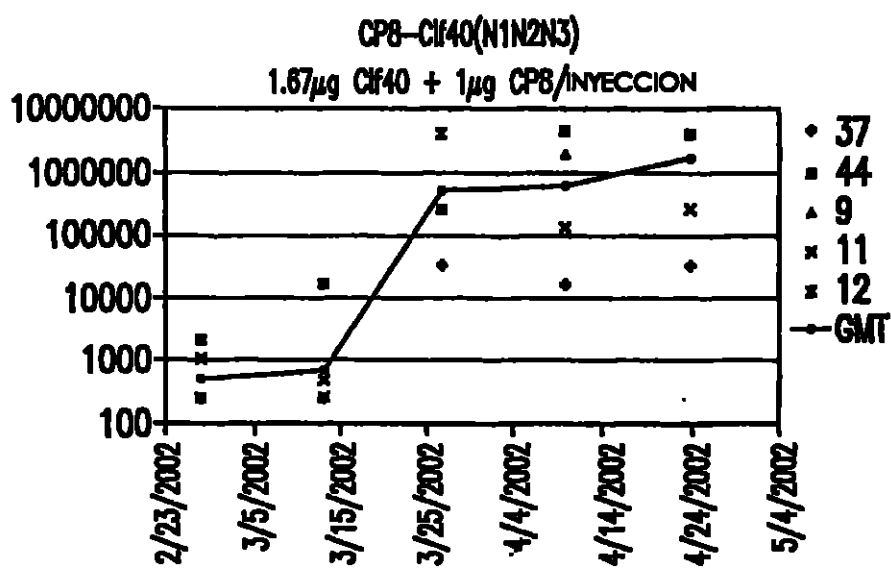


FIG.17B

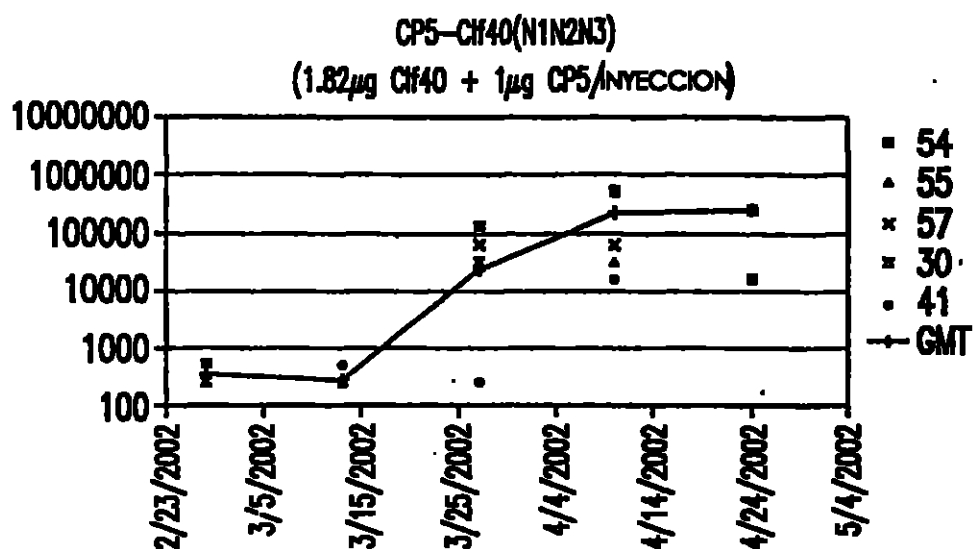


FIG.17C

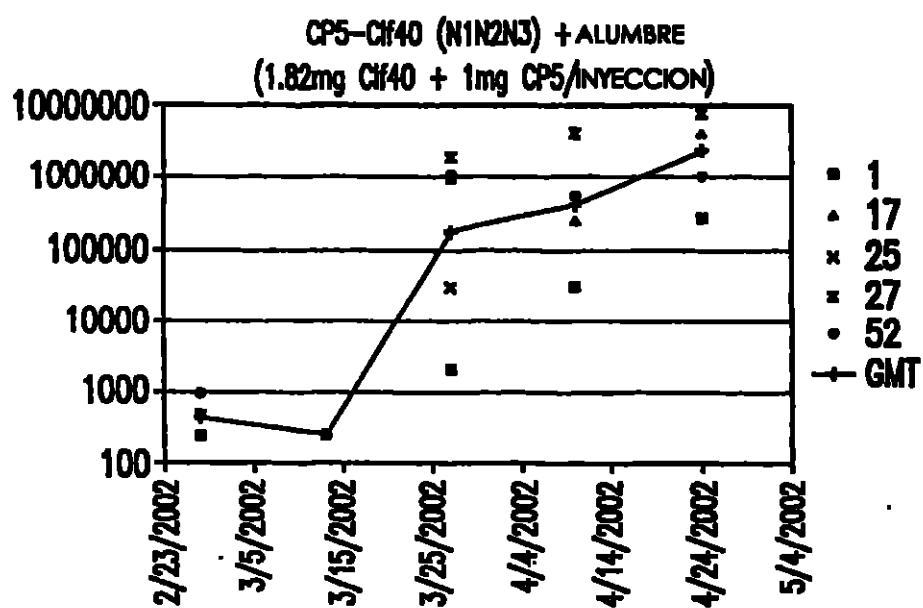


FIG.17D

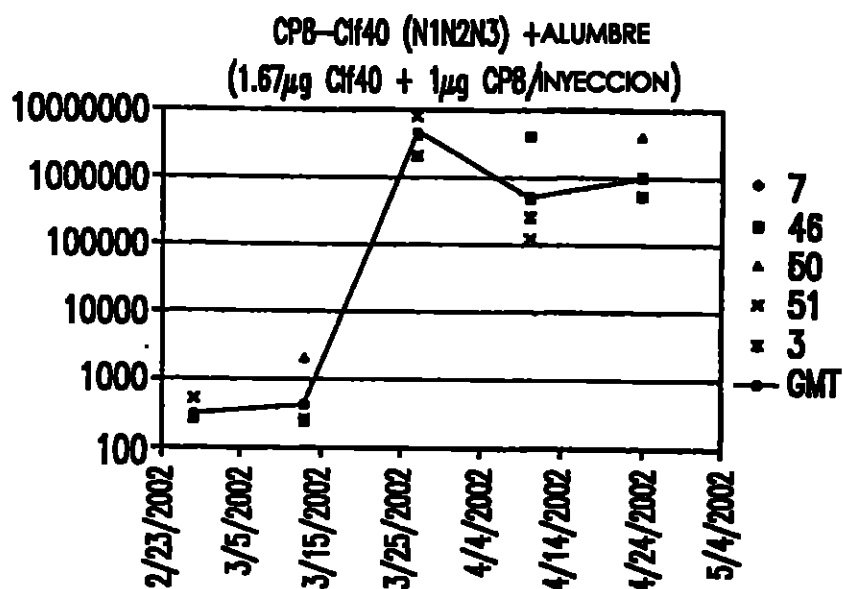


FIG.17E

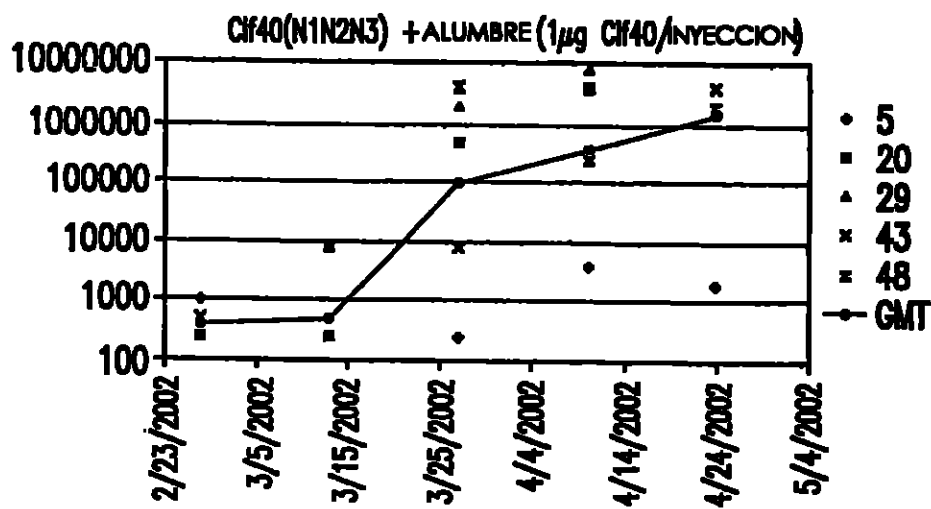


FIG.17F

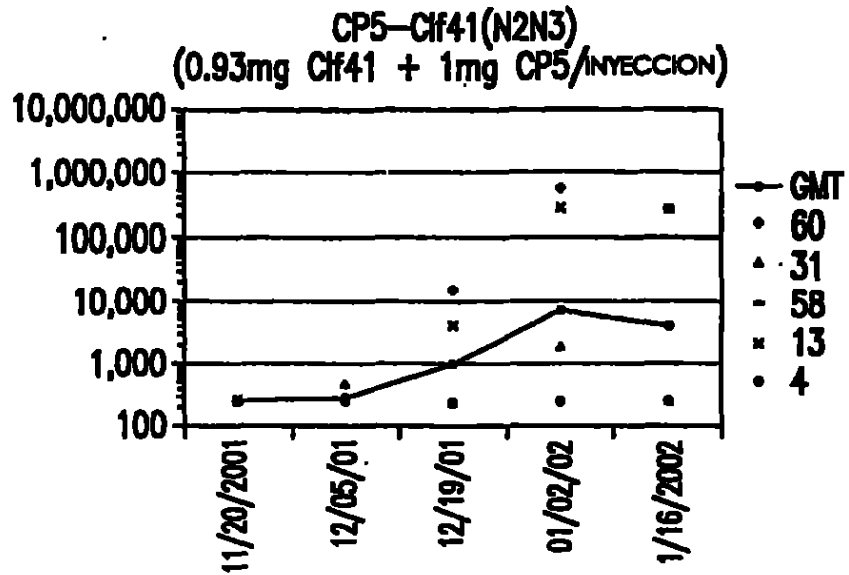


FIG.18A

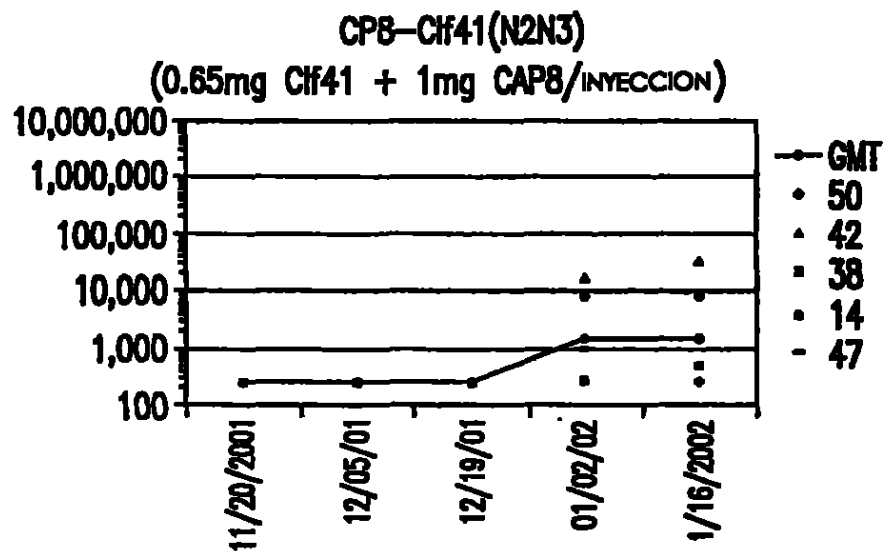


FIG.18B

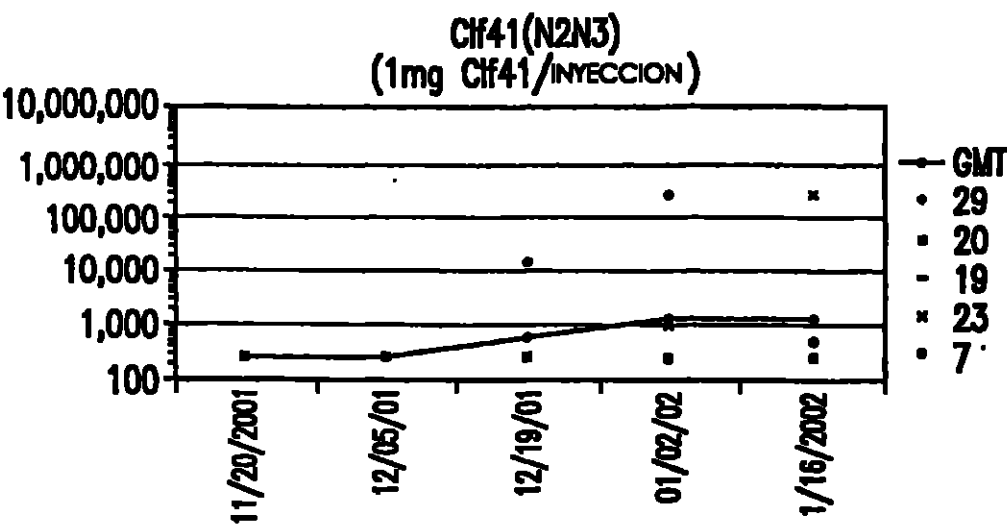


FIG.18C

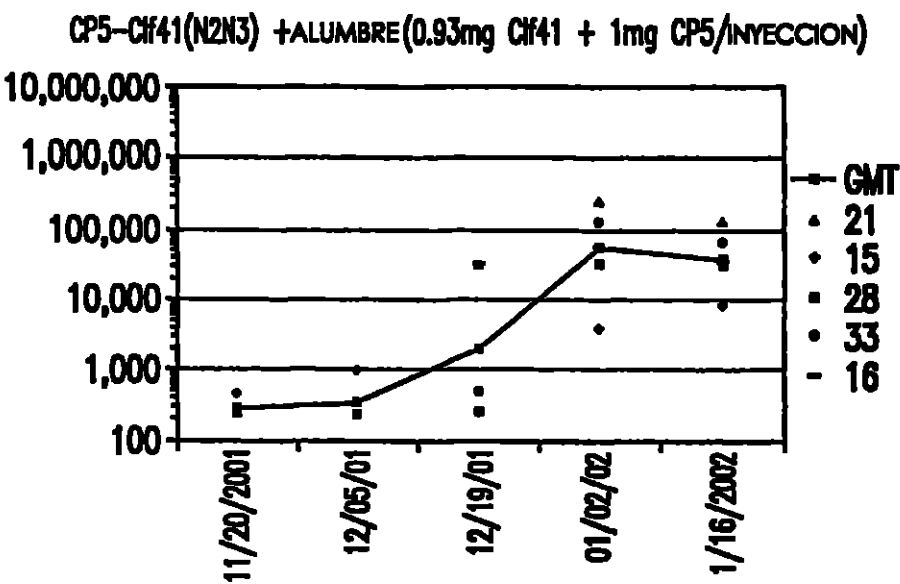


FIG.18D

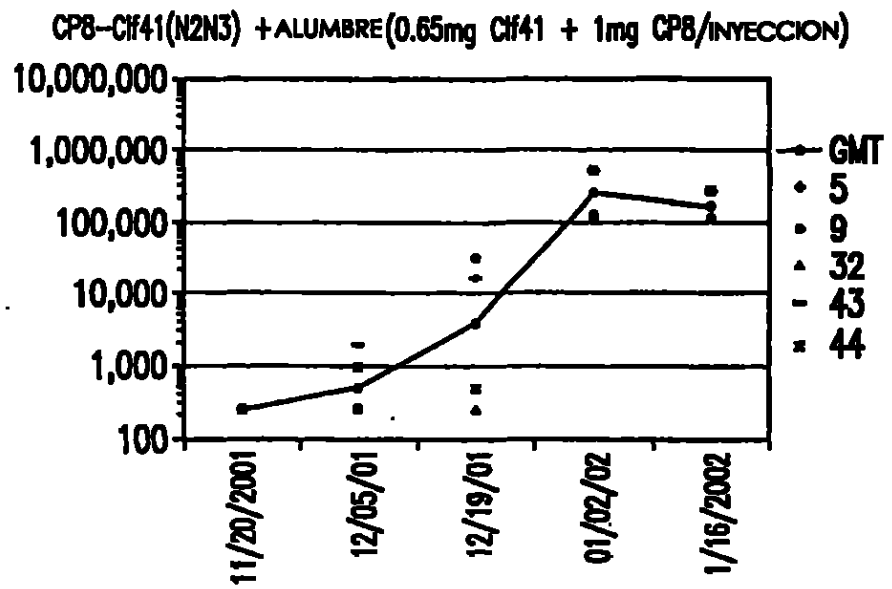


FIG.18E

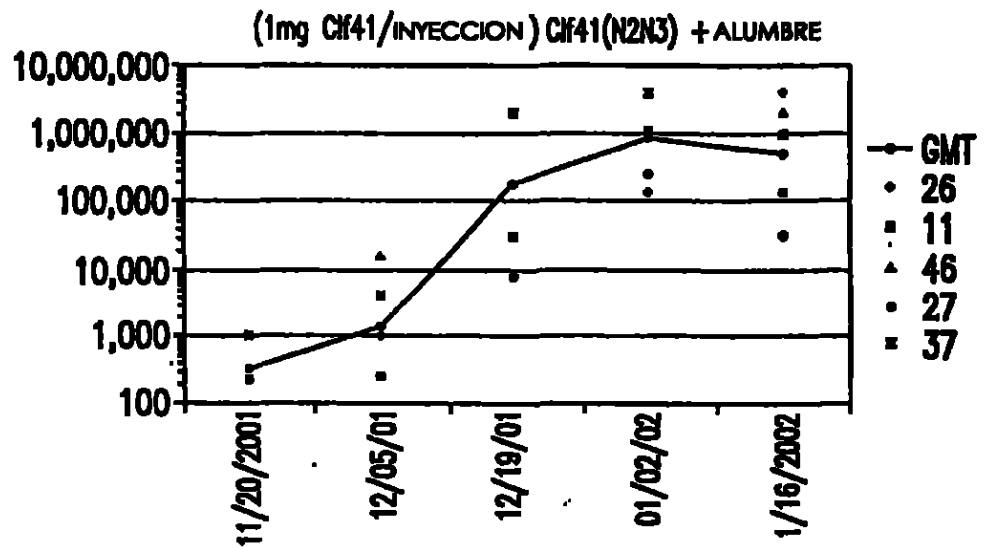


FIG.18F

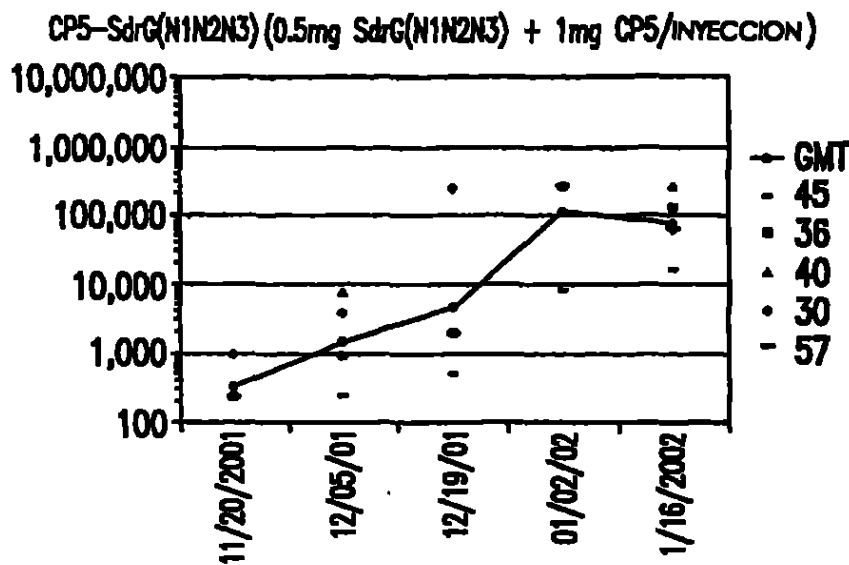


FIG.19A

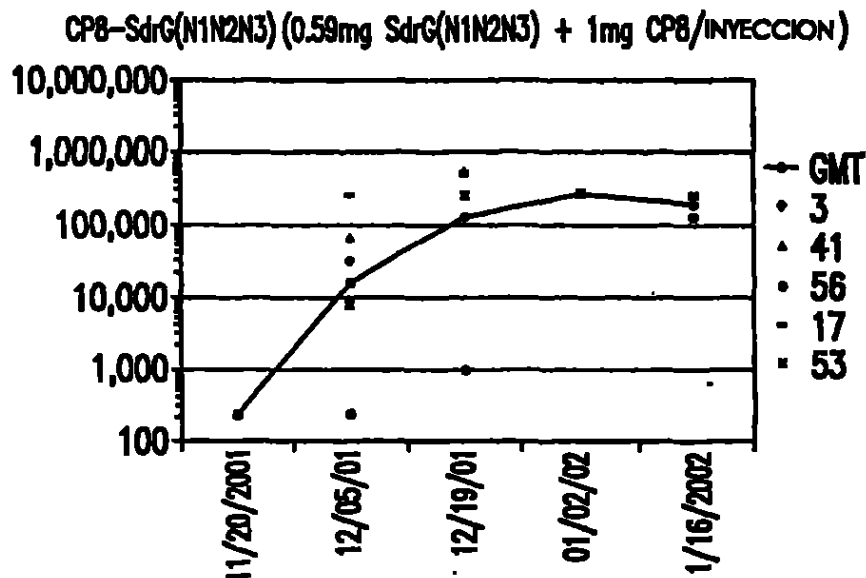


FIG.19B

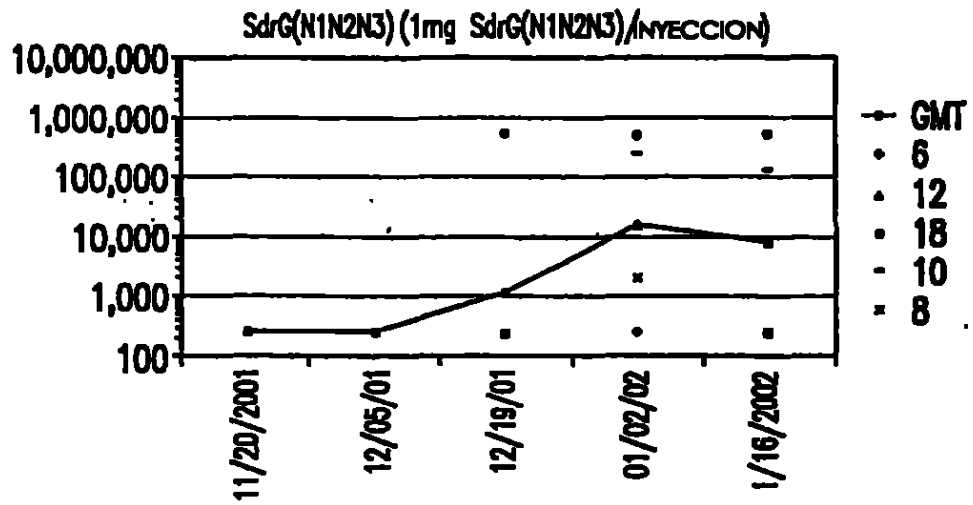


FIG.19C

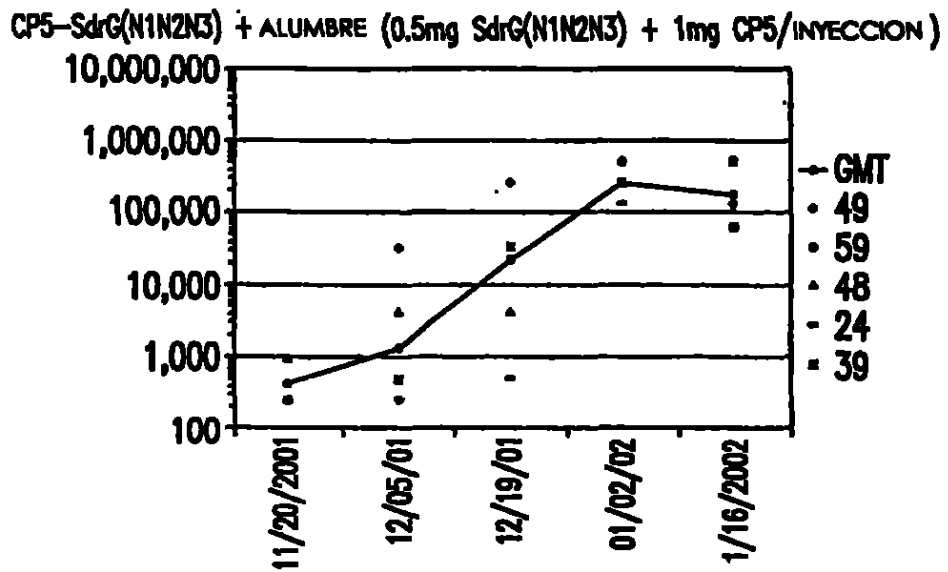


FIG.19D

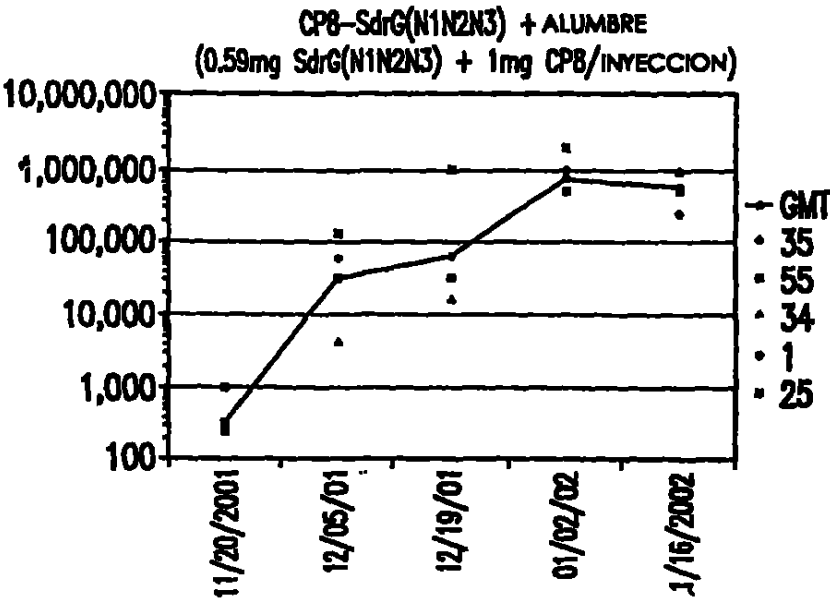


FIG.19E

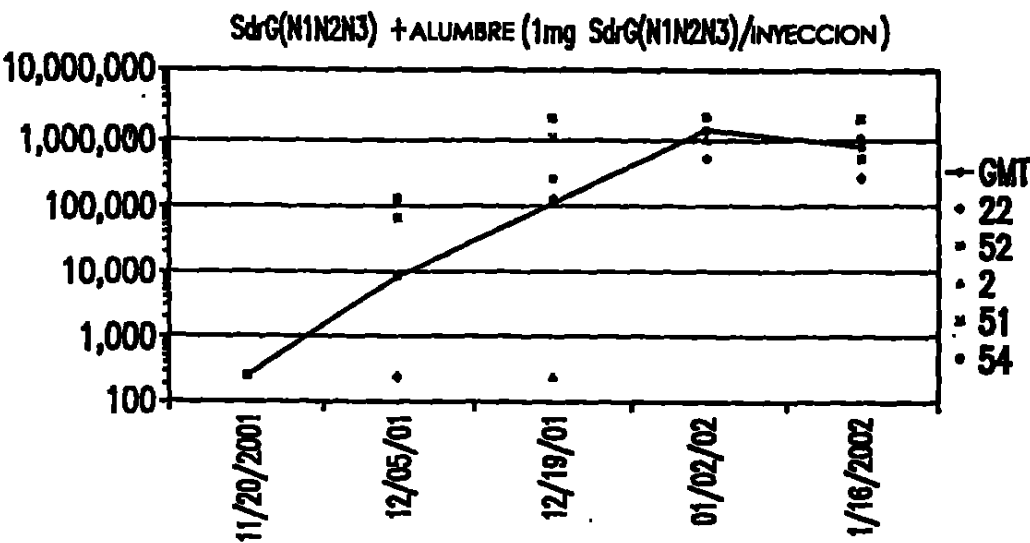


FIG.19F

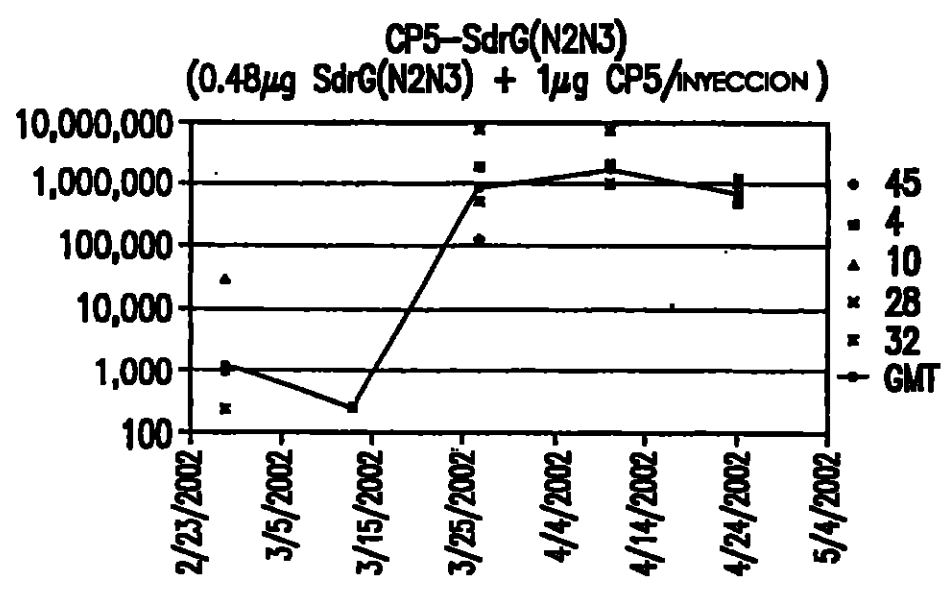


**FIG.20A**

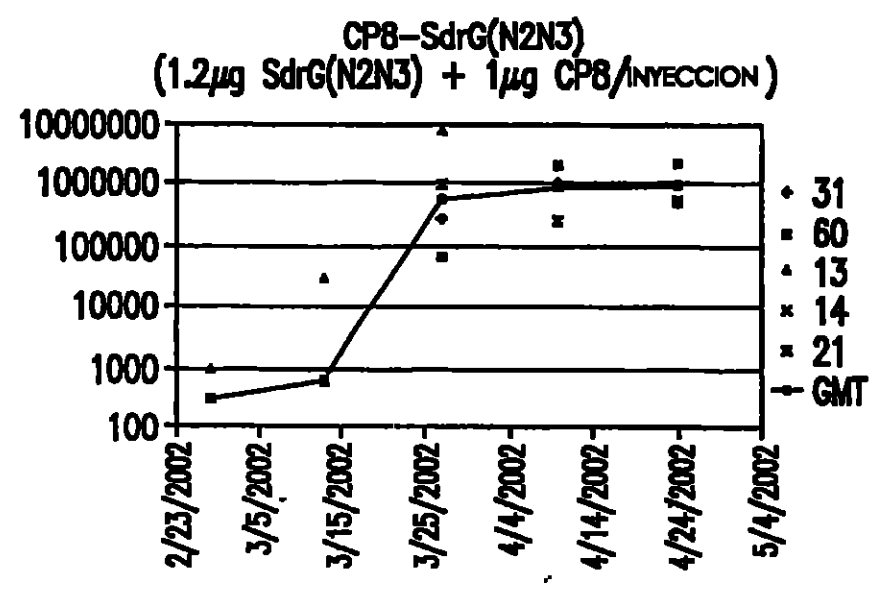


**FIG.20B**

33/34

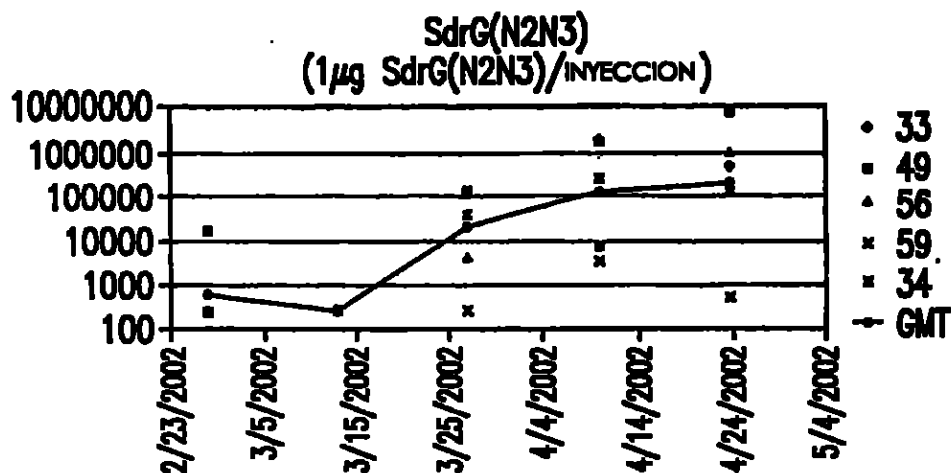


FIG. 20C

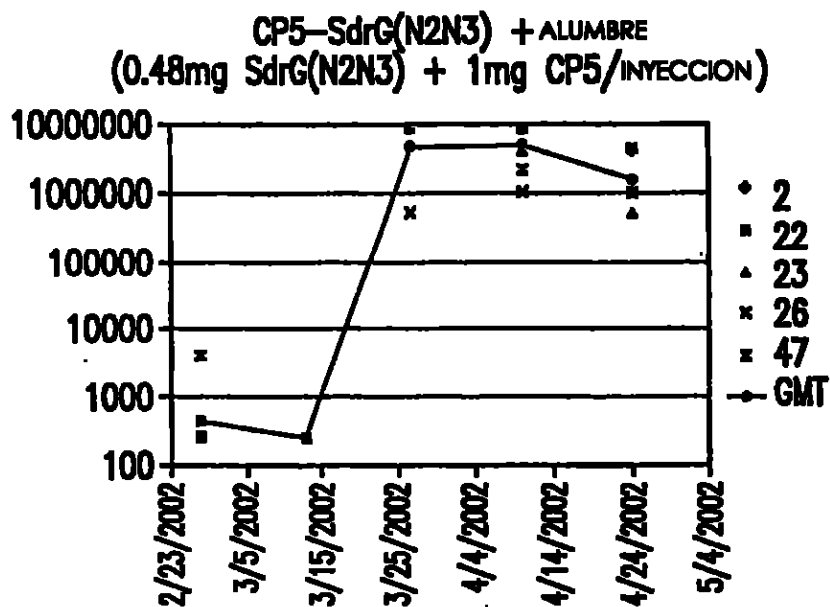


FIG. 20D

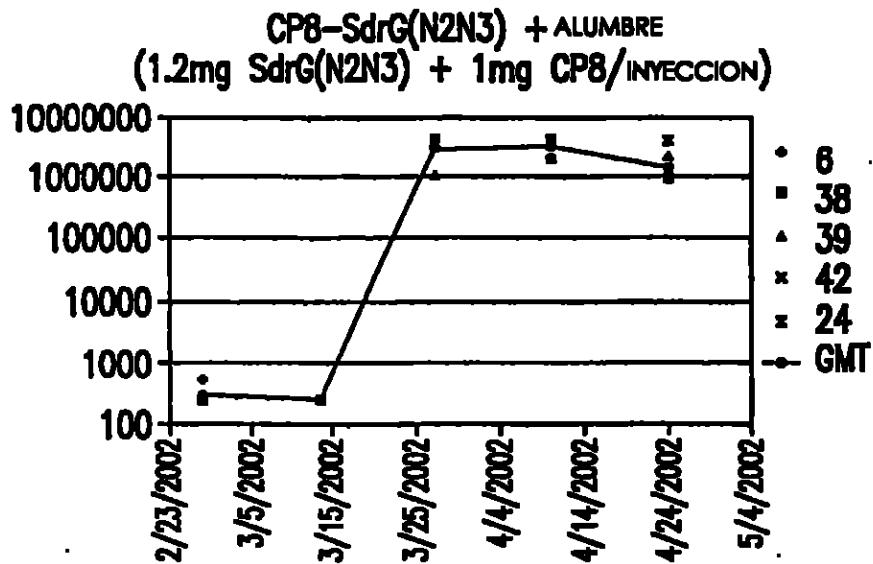


FIG.20E

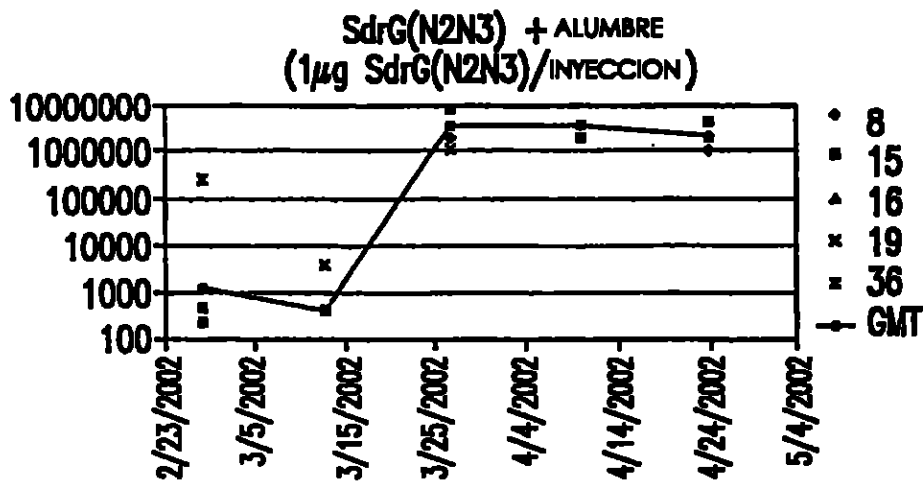


FIG.20F

187  
183



**Industria y Comercio**  
**SUPERINTENDENCIA**

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO

Kadicacion : 05000222 00000000 Fojos: 186  
Fecha (MM): 2005-09-02 16:49:25  
Trámite : 001 PCT-PATENT 378 FILE N°13 411 PRESENTAL  
Dependencia: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADM  
PCT**

PATENTE DE INVENCION [ X ]

MODELO DE UTILIDAD [ ]

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [ X ] 1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ X ] 1
- ◆ Descripción de la invención [ X ] 7 C
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [ ]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ X ] 2

COMPLETA [ X ]

INCOMPLETA [ ]

DISEÑO INDUSTRIAL [ ]

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial [ ]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño [ ]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA [ ]

ESQUEMA DE TRAZADO [ ]

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado I [ ]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado [ ]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA [ ]

Firma Responsable

Fecha \_\_\_\_\_

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10  
Conmutador: 3 82 08 40  
Fax: 350 52 20  
E-mail: [info@sic.gov.co](mailto:info@sic.gov.co)  
[www.sic.gov.co](http://www.sic.gov.co)  
Bogotá, D.C., Colombia

188  
184

**REPUBLICA DE COLOMBIA**  
**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Bogotá,  
2020

Doctor(a)  
LLOREDA RICAURTE ALICIA

|            |                            |               |
|------------|----------------------------|---------------|
| REFERENCIA | Radicación No.             | 5 88322       |
|            | Solicitud internacional    | US2004/006661 |
|            | Fecha inicio fase nacional | 07/10/2005    |
|            | Trámite                    | 11            |
|            | Evento                     | 378           |
|            | Actuación                  | 430           |
|            | Oficio No.                 | 9991          |

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente de los inventores a los solicitantes o a sus causantes. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado por la sociedad INHIBITEX INC con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

  
ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL  
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 28 OCT. 2005  
adpal